MIKROCHEMIE

VEREINIGT MIT

MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR

A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · F. SCHNEIDER - New York
R. STREBINGER - Wien · C. L. WILSON - Belfast
M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS

E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF

M. K. ZACHERL - Wien

BAND XL, DRITTES HEFT

MIT 24 TEXTABBILDUNGEN

ABGESCHLOSSEN AM 31. JANUAR 1953

WIEN

SPRINGER-VERLAG

1953

Mikrochem.

Die Zeitschrift

„Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen. Diese Hefte werden zu Bänden von 400—500 Druckseiten vereinigt. Der Preis eines Heftes richtet sich nach seinem Umfang und den jeweiligen Herstellungskosten. Für Lieferungen in das Ausland gelten Auslandspreise.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Eingangs der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editors of "Mikrochemie", Department of Chemistry, Queen's College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler and Dr. F. Schneider)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Dr. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Es können somit grundsätzlich nur Arbeiten aufgenommen werden, die vorher weder im Inlande noch im Auslande veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen sich der Verfasser verpflichtet.

Die ausländischen Autoren werden im Interesse rascher Veröffentlichung gebeten, bei der Abfassung der Manuskripte Flugpostpapier zu verwenden und eine Abschrift bei sich zu behalten, um die Rücksendung des Originals mit den Fahnen vermeiden zu können. Den Manuskripten soll eine

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

XL. Band 3. Heft

Inhaltsverzeichnis

Seite

Stumpff, Renate. Erfahrungen mit der Leipertschen Hypobromitmethode zur Reststickstoffbestimmung und ein Versuch ihrer kolorimetrischen Modifikation 193

Spitzy, H. und **H. Stormann.** Eine einfache photometrische Schnellbestimmung von Thyroxin 198

Schlögl, K. und **A. Siegel.** Papierchromatographische Trennung und Identifizierung von einwertigen Phenolen als Arylessigsäuren. I. Mitteilung über Papierchromatographie organischer Säuren 202

Goerdeler, J. und **H. Domgörgen.** Zum Nachweis von Sauerstoff in organischen Verbindungen 212

El-Badry, H. M. and **C. L. Wilson.** Chemical Analysis on the Microgram Scale. II. Separation and Identification of Lead, Mercurous Mercury, Silver, and Tungstate 218

El-Badry, H. M. and **C. L. Wilson.** Chemical Analysis on the Microgram Scale. III. Semi-Quantitative Estimation of Lead, Mercurous Mercury, Silver, and Tungsten 225

El-Badry, H. M. and **C. L. Wilson.** Chemical Analysis on the Microgram Scale. IV. Semi-Quantitative Estimation of Vanadium 230

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

Aus der Inneren Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses Langenhorn in Hamburg-Langenhorn.

Erfahrungen mit der Leipertschen Hypobromitmethode zur Reststickstoffbestimmung und ein Versuch ihrer kolorimetrischen Modifikation.

Von

Renate Stumpff.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 18. September 1952.)

Um dem Mangel einer kolorimetrischen Reststickstoffmethode für die Allgemeinpraxis, das heißt, einer Methode ohne Veraschung und Destillation abzuhelfen, prüften wir das *Leipert*sche Verfahren[1] nach, mit dem Ziel, es zu einem kolorimetrischen Verfahren zu modifizieren. Wir ersetzten die von *Leipert* angewendeten Kaliumjodidkristalle durch eine gesättigte Lösung, die durch Zusatz einiger Tropfen Natronlauge stabilisiert wurde. Die Zugabe jeweils eines Tropfens dieser Lösung zum Reaktionsgemisch gewährleistet die Verwendung von stets gleichbleibenden Kaliumjodidmengen. So kamen wir bei Anwendung der *Leipert*schen Originalmethode mit einer 100 mg-% Stickstoff enthaltenden Harnstofflösung (216 mg Harnstoff in 100 ml bidest. Wasser) zu obiger, im Laufe der jetzt seit einem Jahr durchgeführten Untersuchungen stets reproduzierbarer Eichkurve (Abb. 1).

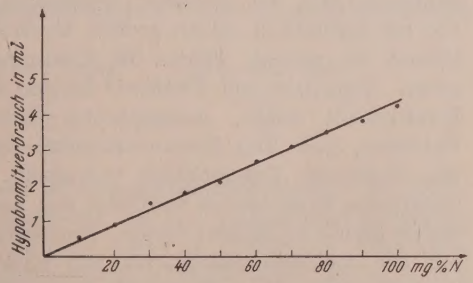


Abb. 1.

Allerdings waren dabei folgende Bedingungen zu beachten:

1. Die Hypobromitlösung mußte unmittelbar vor dem Einfüllen in die Reagensgläser (mittels Einlaufbürette) frisch bereitet sein.

2. Die Raumtemperatur durfte nicht mehr als 16 bis 18° C betragen. Einsetzen der Gläser in ein Eisbad ist ebenso ungünstig wie eine Temperatursteigerung über 18°.

3. Zufällige Sonnenbestrahlung der Gläser nach Zusatz von Hypobromitlösung bewirkt unkontrollierbare Fehlergebnisse und muß daher vermieden werden.

4. Bromlösung und Puffer mußten ständig im Eisschrank bei 0 bis 4° gehalten werden. Auch unter diesen Vorsichtsmaßregeln war die Haltbarkeit des Puffers auf 6 bis 8 Tage beschränkt.

Bei der praktischen Erprobung der Methode, die wir im Vergleich mit unseren laufenden Reststickstoffbestimmungen (*Kjeldahl-*, später *Nessler*-Verfahren) seit einem Jahr durchführten, sahen wir bei 550 Vergleichsuntersuchungen folgende Ergebnisse:

In zirka 30% der Fälle gute Übereinstimmung mit den nach *Kjeldahl* gefundenen Werten, in zirka 40% der Fälle Abweichungen nach unten um 7 bis 10%, in zirka 30% der Fälle Abweichungen nach oben um 10 bis 20%. Sämtliche Werte wurden in übereinstimmenden Doppelbestimmungen gewonnen, so daß technische Fehler auszuschließen sind.

Auch *Leipert* gibt an, daß Hypobromitwert und *Kjeldahl*-Wert nicht unbedingt gleich sein müssen. Die von ihm gefundene Übereinstimmung beruht seiner Ansicht nach darauf, daß im allgemeinen der Reststickstoff hauptsächlich aus Harnstoffstickstoff besteht. Bei Berücksichtigung der Tatsache, daß die Nichtharnstoffsubstanzen des Reststickstoffes immerhin 45% des gesamten Reststickstoffes ausmachen, dürften die von uns gefundenen relativ großen Abweichungen erklärbar sein. Hinzu kommt als weiterer Faktor die Zusammensetzung unseres Patientengutes. *Rappaport* und *Eichhorn*[2] führten ihre Untersuchungen an einer Kinderklinik durch; demgegenüber haben wir überwiegend ältere Patienten, zum Teil Karzinomkranke, zum Teil schwere Hepatitiden und chronische Leberschäden untersucht. In Fällen mit erheblichem endogenem Eiweißzerfall wird man den Aminosäureanteil des Reststickstoffes erhöht annehmen dürfen. Entsprechend der erhöhten Reaktionszeit des Aminosäurestickstoffes mit Hypobromitreagens würden dann diese Werte zu niedrig liegen. Auch *Leipert* geht auf dieses Problem ein, schildert aber nur einen Fall, bei dem die Werte übereinstimmen.

Zu den entsprechenden Ergebnissen kamen wir auch bei Verwendung der von *Rappaport* und *Eichhorn* angegebenen Puffer- und Enteiweißungslösungen. Auch die Umstellung des Verfahrens zur Kolorimetrie (Modifikation nach *Führ*[3]) brachte die gleichen Resultate. Bei dieser Modifikation ersetzten wir die Titration des überschüssigen Jods mit 0,01-n Thiosulfatlösung durch Ausschütteln mit Toluol und Messung der rosa bis burgunderroten Farbe, die das Jod in diesem Lösungsmittel zeigt. Diese gut durchführbaren Messungen nahmen wir mit dem

lichtelektrischen Kolorimeter nach Dr. *Fuhrmann* der Firma Hartmann und Braun vor. Wir gingen wie folgt vor:

1 ml Serum wurde mit 2 ml 20%iger Trichloressigsäure und 2 ml dest. Wasser versetzt, filtriert und zu 1 ml Filtrat 0,5 ml 10%ige Natronlauge und 5 ml Hypobromitreagens* zugesetzt. Nach 2 Minuten wurden 1 Tropfen gesättigter Kaliumjodidlösung, 4 ml Toluol und 2 ml 18,5%ige Salzsäure zugesetzt, das Reagensglas sofort fest verschlossen und zirka 30 Sekunden kräftig geschüttelt. Dabei färbt sich die Toluolphase rosa bis rot, die wässerige Phase wird fast vollständig entfärbt. Nach Absaugen der wässerigen Phase unter der Wasserstrahlpumpe kann die Küvette des Kolorimeters mit der Toluollösung gefüllt und deren Farbintensität gemessen werden.

Der Reststickstoff stammt neben Harnstoff noch aus Harnsäure, Aminosäuren (Alanin, Glykokoll, Cystin, Cystein, Tyrosin, Tryptophan), Kreatin und Kreatinin und ist nach *Becher*[4] anteilmäßig etwa wie folgt aufzuteilen:

Harnstoff-Stickstoff durchschnittlich	15 mg-%
Stickstoff der freien und gebundenen Aminosäuren	10 „
Stickstoff des Kreatins und Kreatinins	2 „
Stickstoff der Harnsäure	1 „

Wir testeten daher die Verwendbarkeit der Methode zur Bestimmung von Harnsäure und verschiedenen reinen Aminosäuren. Dabei stellten wir fest, daß reine Aminosäuren zu 50 bis 80%, Harnsäure aber nur zu 20% von der Bestimmungsmethode erfaßt werden konnten (Kontrollen nach *Kjeldahl*).

	mg-% nach *Kjeldahl*	mg-% nach *Leipert*
Harnsäure	55	12
Methionin	56	44
Glykokoll	56	45

Ebenso wie *Dán*[5] fanden wir bei längerer Einwirkungszeit des Hypobromits bei Harnstoff konstante Werte, bei den Aminosäuren Steigerung des Hypobromitverbrauches um etwa 1,6 ml in 15 Minuten. Dies sowie die Abweichungen der Harnsäurewerte nach unten würde die zu niedrig liegenden Werte betreffen. Im Hinblick auf die zu hoch ausgefallenen Ergebnisse müssen wir annehmen, daß unter noch unbekannten Bedingungen reststickstofffreie Substanzen gewisse Mengen von Hypobromit verbrauchen, möglicherweise durch katalytisches Freisetzen von Brom. Um welche Substanzen es sich dabei handelt, bedarf einer späteren Klärung.

Auch die von *Rappaport* und *Eichhorn* angegebene Regel, die mit Hypobromit beschickten Kolben durch Gummistopfen luftdicht zu

* Mischung von 5 ml Bromlösung und 50 ml Boratpuffer.

verschließen, um ein Entweichen von frei werdendem Brom zu verhindern, hat sich hier nicht mit Sicherheit bewährt. Zu erwägen wäre die Verwendung von dunklen Gläsern bzw. das Ansetzen der Reaktion in der Dunkelkammer, um störende Lichteinflüsse auszuschließen. Abgesehen von den technischen Schwierigkeiten (Ungenauigkeit beim Arbeiten bei Rotlicht), würde hierdurch die Methode zur Titration völlig ungeeignet, da man im dunklen Glas den Umschlagspunkt nicht erkennen kann.

Abschließend möchte ich nicht versäumen, Herrn Dr. *Führ* für seine Anregungen und Ratschläge zu dieser Arbeit meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Zusammenfassung.

Es wird über Erfahrungen mit der *Leipert*schen Hypobromitmethode und der zur Kolorimetrie möglichen Modifikation des Verfahrens nach *Führ* berichtet. Wir kamen in Übereinstimmung mit *Leipert* und *Goa*[6] zu dem Ergebnis, daß die Methode und ihre Modifikation zur quantitativen Bestimmung reiner Harnstoff- oder Ammoniumsulfatlösungen zuverlässig verwendbar sind. Bei längerem praktischem Gebrauch (550 Vergleichsuntersuchungen) zur Reststickstoffbestimmung mit *Kjeldahl*-Kontrolle stellten wir jedoch selbst bei Anwendung aller Kautelen häufig differierende Werte fest. Die Fehlerquellen liegen in der Instabilität der Reagenzien, vor allem des Hypobromitreagens, die den Gebrauch der Methode in der freien Praxis einschränkt, weiters in der unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeit der einzelnen Reststickstoffsubstanzen mit dem Hypobromitreagens. Schließlich scheinen bisher unbekannte, möglicherweise katalytisch wirkende Substanzen im Blutfiltrat die Methode zu stören.

Summary.

A report is given concerning experiences with the *Leipert* hypobromite method and the possible modifications for colorimetric determination according to *Führ*. In agreement with *Leipert* and *Goa*, the authors found that the method and its modification can be used with confidence for the quantitative determination of pure urea- and ammonium sulfate solutions. However, after long practical experience (550 comparison studies) divergent values were often observed in the determination of residual nitrogen even though all the precautions were observed. The analyses were checked by the *Kjeldahl* method. The errors arise from the instability of the reagents, particularly the hypobromite reagent, and furthermore from the different rates at which the residual nitrogenous materials react with the hypobromite reagent. Finally, hitherto unknown, perhaps catalytically active materials in the blood filtrate seem to interfere with the method.

Résumé.

On décrit des expériences avec la méthode à l'hypobromite de *Leipert* et avec la modification rendue possible pour la colorimétrie du procédé

de *Führ*. Nous sommes arrivés en accord avec *Leipert* et *Goa* au résultat que la méthode et sa modification pour le dosage quantitatif de solutions d'urée ou de sulfate d'ammonium sont utilisables en toute confiance. Au cours d'un emploi pratique étendu (550 dosages de comparaison) pour le dosage de l'azote résiduel avec contrôle *Kjeldahl* nous avons toutefois établi que même après observation de toutes les précautions, on trouve des valeurs différentes. Les causes d'erreur tiennent à l'instabilité des réactifs, avant tout du réactif à l'hypobromite qui restreint l'emploi de la méthode dans la pratique courante, ensuite à la vitesse de réaction différente de l'hypobromite sur les substances individuelles à azote résiduel. En fin de compte, il parait y avoir des substances inconnues jusqu'ici exerçant probablement une action catalytique dans le filtrat sanguin et troublant la méthode.

Literatur.

[1] *Th. Leipert*, Mikrochem. **34**, 276 (1949).
[2] *F. Rappaport* und *F. Eichhorn*, Analyt. Chim. Acta **3**, 674 (1945).
[3] *J. Führ*, unveröffentlichte Arbeit.
[4] *E. Becher*, Einfache quantitative, klinisch-chemische Harn- und Blutuntersuchungsmethoden, G. Fischer Jena, 1934, S. 28.
[5] *S. Dán (Dickmann)*, Wien. Arch. inn. Med. **29**, 276 (1948).
[6] *J. Goa*, Scand. Clin. Labor. Investigations **3**, 311 (1951).

Aus der Chemischen und Physiologischen Abteilung des Paracelsus-Institutes Bad Hall, Oberösterreich.

Eine einfache photometrische Schnellbestimmung von Thyroxin.

Von

H. Spitzy und **H. Stormann.**

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 24. September 1952.)

Jod liegt im Thyroxin (3,5,3′,5′-Tetrajodthyronin, Mol.-Gew. = = 776,93) und nach neuesten Feststellungen auch im Trijodthyronin[1] in seiner physiologisch wirksamsten Form vor. Es genügen wenige Gamma Thyroxin, um bedeutsamste biologische Veränderungen auf dem Gebiete des Stoffwechsels und der Entwicklung hervorzurufen. Hierauf gründen sich die biologischen Bestimmungsmethoden wie Gaswechsel- und Gewichtsmethode, die die Stoffwechselsteigerung messen, während an Kaulquappen und Axolotl die Entwicklungsbeschleunigung als Maßstab genommen wird[2]. Diese Verfahren sind zeitraubend, an Tiermaterial gebunden und den biologischen Schwankungen unterworfen. Die bisherigen chemischen Methoden bestimmen entweder das Jod oder kuppeln Thyroxin mit einem Diazoniumsalz zu einem photometrisch verwertbaren Farbstoff. Die Erfassung des im Thyroxin gebundenen Jods, wie sie von *Abelin*[3] durchgeführt wurde, unterliegt der bekannten Kompliziertheit der Mikrojodbestimmung. Die ursprüngliche Ansicht, in der Trichloressigsäure-unlöslichen Fraktion (PBI = Protein bound Iodine) einen Maßstab für den Thyroxinspiegel gefunden zu haben, ist nach neueren amerikanischen Untersuchungen mit ^{131}J[4] nicht zutreffend. Die Verwertbarkeit der Kupplung von Thyroxin mit Diazobenzolsulfonsäure, wie sie von *H. Moser*[5] angegeben wird, ist von nicht leicht einzuhaltenden Versuchsbedingungen sehr abhängig (u. a. muß die Kupplungszeit auf Sekunden genau eingehalten werden). *D. Winikoff* und *V. M. Trikojus*[6] verwenden zur Kupplung diazotiertes N-Diäthylsulfanilamid und benötigen bei gleichfalls komplizierter Versuchsanlage zur Bestimmung 24 Stunden. Die beiden letztgenannten Verfahren erfassen noch 10 γ bzw. 20 γ Thyr-

oxin. Die Einfachheit und Schnelligkeit unserer Bestimmungsmethode von Thyroxin im Vergleich zu den bisherigen chemischen Verfahren veranlaßt uns, hierüber zu berichten. Sie basiert auf folgender Erscheinung:

Nach Ansäuern einer Thyroxinlösung* mit verdünnter Salzsäure und Zusatz von Nitritlösung kommt es in einigen Minuten bei Zimmertemperatur zu einem gelblichen Farbton, der in alkalischem Medium gegen rot

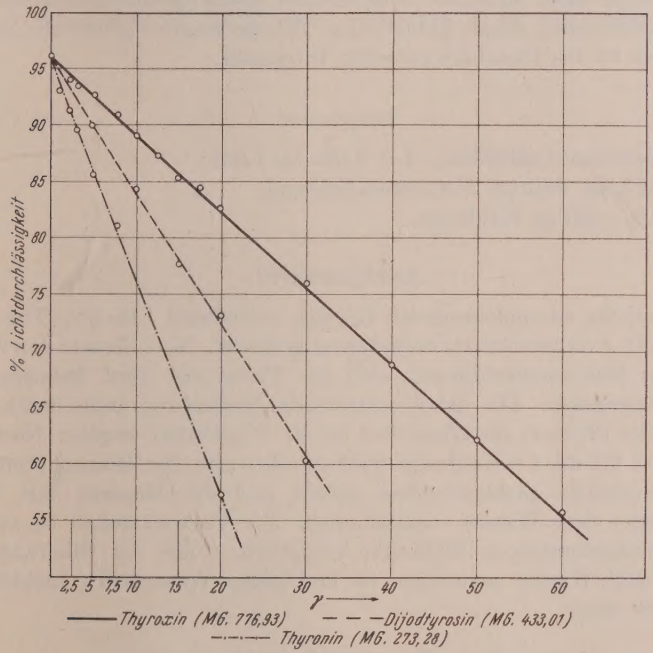


Abb. 1.

verschoben wird. Im Bereich von 1 bis 10 γ Thyroxin läßt sich erst durch Photometrieren ein Unterschied gegenüber dem Blindwert (96% Lichtdurchlässigkeit gegen Wasser) feststellen. Über den Reaktionsverlauf und die dabei entstehenden Verbindungen sind Untersuchungen im Gange. Der rote Farbton ist photometrisch auswertbar (siehe Abbildung) und bis zu 30 Minuten nach dem Nitritzusatz konstant. Der Einfluß erhöhter Temperatur wurde untersucht: es ergab sich kein Vorteil gegenüber Zimmertemperatur. Im Bereich von 1 bis 10 γ Thyroxin ist eine weitgehende Differenzierung möglich. Unsere Messungen wurden mit dem Mikrophotometer nach *Krumholz* der Fa. P. Haack mit beigegebenem Blau-

* Wir danken der Fa. Hoffmann-La Roche u. Co., Basel, für die freundliche Überlassung der Thyroxin- und Dijodtyrosinpräparate.

filter durchgeführt. Der Apparatefehler beträgt hierbei im Bereich von 90 bis 100% Lichtdurchlässigkeit bereits bis zu 10%. Es besteht somit die Möglichkeit, bei Anwendung eines empfindlicheren Meßgerätes auch bei Thyroxingehalten unter 10 γ zu einer größeren Genauigkeit zu gelangen.

Neben Thyroxin zeigen auch das jodfreie Thyronin und Dijodtyrosin anscheinend ihrer Molarität entsprechend diese photometrisch verwertbare Farbreaktion (siehe Abbildung). Tyrosin reagiert gleichfalls, jedoch mit einer 10- bis 15mal schwächeren Intensität.

Reagenzien:

1. Verdünnte Salzsäure, d = 1,059 bis 1,061;
2. 32%ige wäßrige Natriumnitritlösung,
3. 4-n wäßrige Kalilauge.

Arbeitsvorschrift:

1,0 ml der zu analysierenden Lösung, enthaltend 1 bis 60 γ Thyroxin, wird mit 0,1 ml verdünnter Salzsäure angesäuert. Nach Zusatz von 0,1 ml 32%iger Natriumnitritlösung wird die Probe auf fünf Minuten sich selbst überlassen. Die dabei auftretende Gasbildung kann durch Einstellen der Probe in ein Wasserbad bei 40° C gefördert werden. Nach Zusatz von 0,1 ml 4-n Kalilauge wird die Küvette des Mikrophotometers nach *Krumholz* gasbläschenfrei gefüllt und die Messung mit Blaufilter gegen dest. Wasser vorgenommen. Der Thyroxingehalt ist aus der zuvor aufgenommenen Eichkurve abzulesen, wobei der Blindwert mit 1,0 ml dest. Wasser anzusetzen ist und gegen Wasser 96% Lichtdurchlässigkeit zeigt.

Zusammenfassung.

Es wird über eine einfache photometrische Schnellbestimmung von Thyroxin berichtet, wonach Mengen von 10 bis 60 γ Thyroxin mit ausreichender Genauigkeit zu bestimmen sind. 1 bis 10 γ Thyroxin sind differenzierbar.

Summary.

A simple rapid photometric method of determining thyroxin is described, by which quantities of 10 to 60 γ can be measured with sufficient accuracy. It is possible to differentiate between 1 to 10 γ thyroxin.

Résumé.

On décrit un dosage colorimétrique simple de la thyroxine d'après lequel on détermine des quantités de 10 à 60 γ de thyroxine avec une précision suffisante. On peut distinguer de 1 à 10 γ de thyroxine.

Literatur.

[1] *Pitt-Rivers, Gross*, Lancet **1**, 593 (1952).
[2] *R. Abderhalden*, Die Hormone. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg. 1952.
[3] *I. Abelin*, Therapeutische Umschau VII, Heft 11.
[4] *J. C. Laidlow*, Nature **164**, 927 (1949). *T. S. Danowski, S. Y. Johnston* und *J. H. Greenmann*, J. Clin. Endocrinology **10**, 519 (1950).
[5] *H. Moser*, Exper. **3**, 119 (1947).
[6] *D. Winikoff* und *V. M. Trikojus*, Biochemic. J. **42**, 475 (1948).

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Papierchromatographische Trennung und Identifizierung von einwertigen Phenolen als Aryloxyessigsäuren.

I. Mitteilung über Papierchromatographie organischer Säuren.

Von

K. Schlögl und **A. Siegel.**

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 4. Oktober 1952.)

Im Zusammenhang mit anderen Arbeiten unseres Institutes waren wir vor die Aufgabe gestellt, verschieden substituierte einwertige Phenole in kleinen Mengen nachzuweisen und zu trennen. Dafür schien die Papierchromatographie am besten geeignet, jedoch erwiesen sich die meisten bisherigen Trennungs- und Nachweismethoden für Phenole[1, 2] in unserem Fall als unbefriedigend.

Es gelang uns schließlich, die alkylsubstituierten Mono-oxybenzole in Form ihrer Aryloxyessigsäuren (I) befriedigend zu trennen. Gleichzeitig damit wurde eine neue allgemein anwendbare Nachweisreaktion für organische Säuren am Papier entwickelt, die den bisherigen überlegen scheint. Hierüber soll im folgenden berichtet werden.

$$\underset{\text{I}}{\text{AR—O—CH}_2\text{COOH}} \qquad \text{AR} = \text{alkylsubstituierter Benzolkern.}$$

Phenolische Stoffe, vor allem Phenolcarbonsäuren und mehrwertige Phenole zählen zu jenen Körperklassen, die bereits ziemlich häufig der papierchromatographischen Trennungsmethode unterworfen wurden[1, 2]; denn durch den Besitz der hydrophilen Oxygruppe zeigen sie im allgemeinen brauchbare Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser und organischen Lösungsmitteln. Ihr Nachweis kann mit einer Reihe von Farbreaktionen, die vor allem auf ihrer Kupplungsfähigkeit mit Diazoniumsalzen oder ihrem Reduktionsvermögen beruhen, durchgeführt werden.

Trotzdem waren gerade über die Trennung der einfachsten Vertreter dieser Stoffklasse, der alkylsubstituierten Mono-oxybenzole, keine zu-

friedenstellenden Literaturangaben zu finden. Unter anderem wirkt hier die hohe Flüchtigkeit dieser Verbindungen störend, da sie beim Trocknen des Chromatogramms nur sehr milde Bedingungen zuläßt und dadurch die Auswahl der Lösungsmittelgemische stark einschränkt.

Ein Weg zur Umgehung dieser Schwierigkeit ist die Überführung der Phenole in weniger flüchtige Derivate und deren Trennung. So versuchte schon *Hossfeld*[3] Trennungen einfacher Phenole durch Umsetzung mit Diazoniumverbindungen und Trennung der entstandenen Azofarbstoffe. Diese Methode bietet noch den Vorteil, daß die zu trennenden Substanzen selbst gefärbt sind und daher gesonderte Nachweisreaktionen am Papier unnötig sind. Allerdings zeigte es sich, daß auf diesem Weg in verschiedenen Fällen (z. B. bei o- und p-Kresol) zwar eine glatte Trennung zu erzielen ist, daß aber in anderen Fällen (z. B. bei p-Kresol und 3,4-Dimethylphenol) nur wenig verschiedene R_F-Werte erhalten wurden. Der Grund hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß es bei dieser Methode in erster Linie darauf ankommt, in welche Stellung des Phenolmoleküls die Diazoniumkomponente eintritt. Tritt sie, wie bei p-Kresol und 3,4-Dimethylphenol an die gleiche Stelle, so genügt die zusätzliche Anwesenheit einer Methylgruppe im Kern nicht mehr, um eine wesentliche Änderung des R_F-Wertes herbeizuführen. Der neu eingeführte Rest ist also zu groß, um eine Auswirkung der geringen Verschiedenheit des Ausgangsmoleküls zuzulassen.

Es war also notwendig, bei der Bildung der zu trennenden Derivate den in das ursprüngliche Molekül einzuführenden Rest möglichst klein zu halten. Eine Reaktion, die dieser Bedingung recht gut zu entsprechen schien, ist die Umsetzung der Phenole mit Monochloressigsäure[4], da sich die so gebildeten Aryloxyessigsäuren (I) nur durch den Mehrbesitz der Gruppe $—CH_2COOH$ von den Ausgangsphenolen unterscheiden. Außerdem bietet diese Reaktion den Vorteil, daß sie für Phenole weitgehend spezifisch ist und somit gleichzeitig eine Abtrennung der Phenole von sonstigen im Untersuchungsgemisch vorliegenden Substanzen zuläßt. Weiters ist durch die Bestimmung der Schmelzpunkte der meist gut kristallisierenden Aryloxyessigsäuren bekanntlich eine weitere Möglichkeit zur Identifizierung der vorliegenden Phenole gegeben[4]. Von den von uns dargestellten Aryloxyessigsäuren war nur das Derivat des p-tert.-Amylphenols nicht zur Kristallisation zu bringen. Auch die entsprechende Verbindung des p-sek.-Amylphenols ist nur ein Öl[5]. Jedoch spielt dieser Umstand für die papierchromatographische Trennung keine Rolle.

Der Nachweis der Aryloxyessigsäuren am Papier kann dann in einfacher Weise auf Grund ihrer Carboxylgruppe mit Fluoreszenzindikatoren erfolgen, wie weiter unten näher ausgeführt werden wird.

Wir haben nun Versuche mit diesen Aryloxyessigsäuren durchgeführt und hierbei folgende Versuchsbedingungen eingehalten.

Darstellung der Aryloxyessigsäuren.

Die Bildung dieser Verbindungen, von denen eine größere Anzahl bereits beschrieben ist[4], erfolgt in einfacher Weise durch Umsetzung der Lösung des Phenols oder des zu untersuchenden Phenolgemisches in 33%iger Natronlauge mit einer 50%igen wäßr. Monochloressigsäurelösung während 1 Stunde bei 100° C. Die gebildeten Aryloxyessigsäuren werden hierauf mit konz. Salzsäure ausgefällt, in Äther aufgenommen, zur Entfernung von Chloressigsäure mit Wasser gewaschen, der Ätherlösung mit Sodalösung entzogen und daraus wieder mit Salzsäure gefällt. Die dabei anfallenden Säuren werden, soweit es sich um einheitliche Ausgangssubstanzen handelt, aus Wasser umkristallisiert. Bei Gemischen erübrigt sich dieses Umkristallisieren, ja es ist sogar schädlich, weil dadurch in geringerer Menge anwesende Komponenten in der Mutterlauge zurückbleiben können. Wohl aber kann man bei Vorliegen einer in großem Überschuß vorhandenen Hauptmenge diese durch Umkristallisieren weitgehend entfernen und durch Untersuchung der in der Mutterlauge zurückbleibenden Säuren die in geringer Menge vorhandenen Bestandteile leichter bestimmen. Überdies können der Mutterlauge von der Säurefällung der Hauptmenge die in geringerer Menge vorliegenden Aryloxyessigsäuren ebenfalls mit Äther entzogen werden. Diese Ätherlösung wird dann, wie oben beschrieben, weiter behandelt und dieses Verfahren eventuell noch einmal wiederholt. Bei richtiger Kombination dieser Methoden erzielt man ausgezeichnete Ergebnisse bei der papierchromatographischen Trennung komplexer Gemische. Auf diese Weise konnten wir eine Verunreinigung von 1% noch leicht nachweisen und es gelang uns auch die Bestimmung technischer Phenolgemische.

Ein geringer Gehalt des zur Chromatographie gelangenden Produktes an Chloressigsäure stört die Trennung von alkylsubstituierten Monooxybenzolen nicht, da, wie wir feststellen konnten, die Chloressigsäure unter den angewandten Bedingungen einen R_F-Wert von 0,05 besitzt, der also wesentlich tiefer liegt, als selbst der R_F-Wert der unsubstituierten Phenoxyessigsäure (0,17; s. Tabelle 1).

Lösungsmittelgemische.

Bei der Untersuchung der für die papierchromatographische Trennung der Aryloxyessigsäuren in Frage kommenden Lösungsmittelgemische erwiesen sich saure Gemische, etwa Butanol-Eisessig-Wasser als ungeeignet, da die R_F-Werte alle über 0,90 lagen, also die Säuren mit der Lösungsmittelfront mitliefen. Wir haben deshalb Ammoniak enthaltende Gemische verwendet und festgestellt, daß sich ein Gemisch aus 30 Volumteilen Isoamylalkohol, 15 Teilen konz. wäßr. Ammoniak und 5 Teilen Wasser gut eignet, da es günstig liegende R_F-Werte (0,15 bis 0,80, s. Tabellen 1

bis 3) und auch gute Trennungseffekte ergibt. Außerdem erwies sich dieses Gemisch auch für die später auszuführende Nachweismethode mit Hilfe von Fluoreszenzindikatoren gut geeignet, da die stark ammoniakalische Lösung einen ausgezeichnet fluoreszierenden Untergrund liefert.

Die Wanderungsgeschwindigkeit des genannten Gemisches beträgt bei absteigender Chromatographie und Verwendung von Whatmanpapier Nr. 1 bei 15° etwa 32 cm in 20 Stunden. Bei der Verwendung von Butanol an Stelle von Isoamylalkohol werden die R_F-Werte vergrößert und die einzelnen Substanzen rücken näher zusammen. Benzol hingegen läßt die untersuchten Aryloxyessigsäuren fast vollkommen am Startpunkt zurück. Das Gemisch wird am besten vor jedem Chromatogramm frisch bereitet, da bei längerem Aufbewahren und wiederholtem Öffnen der Vorratsflasche Ammoniakverluste unvermeidlich sind, wodurch es zu Schwankungen der R_F-Werte kommt. Diese Schwankungen erfolgen bei den einzelnen Substanzen jedoch im gleichen Verhältnis, so daß die Lage der Flecke zueinander unverändert bleibt.

Papier.

Für die meisten von uns ausgeführten Chromatogramme wurde Whatmanpapier Nr. 1 verwendet. Wir haben aber auch Vergleichschromatogramme auf Schleicher-Schüll Nr. 2043 b laufen lassen und damit nur unwesentlich tiefere R_F-Werte und gleich gute Trennungseffekte erhalten. Bezieht man die Wanderungsstrecken der Substanzen statt auf die Lösungsmittelfront auf die Wanderungsstrecke einer Vergleichssubstanz (in unserem Falle 2,4-Dimethylphenol), so erhält man die sogenannten R_X-Werte.

$$R_X = \frac{(\text{Wanderungsstrecke})_{\text{Substanz}}}{(\text{Wanderungsstrecke})_{\text{Vergleichssubstanz}}} = \frac{(R_F)_{\text{Substanz}}}{(R_F)_{\text{Vergleichssubstanz}}}.$$

Diese stimmen, während die R_F-Werte manchmal geringen Schwankungen unterworfen sind ($\pm$ 0,03), überhaupt innerhalb der Fehlergrenzen überein. Verwendung von Whatmanpapier Nr. 4 ergab etwas höhere R_F-Werte, die aber auch noch brauchbare Trennungseffekte ergeben; dieses Papier hat sich jedoch für die sogenannte Durchlaufchromatographie zur Trennung von Isomeren, die weiter unten besprochen wird, gut bewährt, da die Lösungsmittelfront hier um etwa 50% rascher wandert und daher die Laufzeit eines Chromatogramms entsprechend verkürzt wird.

Ausführung des Chromatogramms.

Die Durchführung des Chromatogramms erfolgt in der für die absteigende Papierchromatographie allgemein üblichen Form[1]. Die

Substanzen werden in äthanolischer Lösung aufgebracht; davon werden 2 bis 5 λ verwendet, die von jeder zu bestimmenden Komponente etwa 20 bis 50 γ enthalten. (Die Lösungen sind also zirka 1%ig in bezug auf jede Komponente.) Nach entsprechender Laufzeit (zirka 20 Stunden) wird das Papier zunächst 10 Minuten bei 50 bis 60° zur Vertreibung des Lösungsmittels getrocknet. Anschließend wird noch etwa 30 Minuten in einem Trockenschrank auf 140 bis 150° erhitzt. Dabei werden die während des Chromatogramms gebildeten Ammoniumsalze der Aryloxyessigsäuren gespalten, das Ammoniak vertrieben und die freien Aryloxyessigsäuren bleiben am Papier zurück.

Nachweis der Aryloxyessigsäuren.

Zum Nachweis der Säuren haben wir zunächst — wie allgemein üblich[1] — Farbindikatoren, wie etwa Bromphenolblau, Bromkresolgrün und Bromkresolpurpur, verwendet.

Diese Farbindikatoren besitzen jedoch bei der Identifizierung von Säuren am Papier nicht unerhebliche Nachteile. Die Säuren sind infolge der oft nur geringen Farbunterschiede schwer zu erkennen, dazu kommt noch der Nachteil, daß sie sich meist als helle Flecke vom dunklen Grund abzeichnen, was wesentlich schlechter erkennbar ist, als dunkle Flecke auf hellem Grund. Die Grenzfarben der üblichen Indikatoren sind ja im sauren Gebiet heller als im alkalischen (meist gelb nach blau).

Wir haben nun Versuche mit Fluoreszenzindikatoren angestellt und dabei die Tatsache benützt, daß manche dieser Stoffe im alkalischen Bereich intensiv fluoreszieren, während im sauren Bereich Fluoreszenzlöschung eintritt[6]. Als besonders geeignet für unsere Zwecke hat sich Umbelliferon erwiesen, das schon von *Robl*[7] als Titrationsindikator und von *Linser*[8] zur Bestimmung des p_H vorgeschlagen worden war. Der Umschlagspunkt liegt zwischen p_H 6,5 und 7,6. Besprüht man nun ein Säurechromatogramm mit einer 0,025%igen Umbelliferonlösung (25 mg in 100 ml 33%igem wäßr. Äthanol), die mit einigen Tropfen konz. Ammoniak auf ein p_H von etwa 8 bis 9 gebracht wurde, so fluoresziert der Untergrund unter der UV.-Lampe intensiv hellblau, während sich die Säureflecke als scharf begrenzte schwarze Stellen ausgezeichnet und überaus leicht erkennbar abzeichnen. Allerdings erlischt die Fluoreszenz nach dem Eintrocknen des Papiers, kann aber durch nachträgliches Befeuchten wieder sichtbar gemacht werden. Schon nach dem Besprühen mit dem Reagens sind die Säuren meist als schwach gelbbraune Flecke auf weiß-bläulichem Grunde zu erkennen.

Auch eine 0,02%ige wäßr. Lösung von Fluoreszein kann als Sprühreagens Verwendung finden, doch ist die grüne Fluoreszenz des Untergrundes hier nicht so helleuchtend wie beim Umbelliferon. Überdies

liegt auch der Umschlagspunkt bei p_H 3,4 bis 4,1, so daß schwache Säuren bei geringerer Konzentration keine Fluoreszenzlöschung mehr hervorrufen.

Auf diese Weise lassen sich unter Verwendung von Umbelliferon noch 20 γ Aryloxyessigsäuren als solche oder im Gemisch völlig eindeutig am Chromatogramm nachweisen, was etwa 10 γ/cm^2 entspricht.

Natürlich können mit dieser Methode auch beliebige andere organische Säuren am Chromatogramm nachgewiesen werden.

Versuchsergebnisse.

In den folgenden Tabellen sind die Resultate unserer Versuche zusammengestellt. Die angegebenen R_F-Werte sind durchwegs Mittelwerte mehrerer Bestimmungen, wobei die Einzelwerte Schwankungen um $\pm$ 0,03 zeigten. Eine noch bessere Reproduzierbarkeit besitzen die oben näher definierten R_X-Werte. Alle Werte wurden auf Whatman Nr. 1 mit dem Isoamylalkohol-Ammoniak-Wasser-Gemisch (30 : 15 : 5) bestimmt.

Tabelle 1.

Aryloxyessigsäure von	R_F	R_X	Aryloxyessigsäure von	R_F	R_X
Phenol	0,17	0,36	Phenol	0,17	0,36
p-Kresol	0,31	0,65	m-Äthylphenol	0,49	1,02
2,4-Dimethylphenol ...	0,48	1,00	2-Methyl-5-äthylphenol	0,66	1,36
2,4,6-Trimethylphenol .	0,63	1,30	2,4,6-Trimethyl-5-äthylphenol	0,77	1,61

Tabelle 1 zeigt die Änderungen des R_F- bzw. des R_X-Wertes bei Hinzukommen einer neuen Methyl- bzw. Äthylgruppe in den Kern des Moleküls. Wie zu erwarten, steigen die R_F-Werte hierbei an, da durch den weiteren Alkylrest die Wasserlöslichkeit der Säure vermindert und dadurch der Verteilungskoeffizient zugunsten der organischen Phase verschoben wird.

Tabelle 2.

Aryloxyessigsäure von	R_F	R_X
Phenol	0,17	0,36
p-Kresol	0,31	0,65
p-Äthylphenol	0,49	1,02
p-Propylphenol	0,62	1,30
p-tert.-Butylphenol	0,67	1,40
p-tert.-Amylphenol	0,70	1,45

Der gleiche Effekt zeigt sich, wie aus Tabelle 2 hervorgeht, auch bei Vergleich der R_F-Werte von Aryloxyessigsäuren mit verschieden langen Alkylresten. Die Verlängerung des Alkyls führt ebenfalls zu einer Verminderung des hydrophilen Charakters und damit zu einer Erhöhung der R_F-Werte.

Tabelle 3.

Aryloxyessigsäure von	R_F	R_X	Aryloxyessigsäure von	R_F	R_X
o-Kresol	0,33	0,69	o-Äthylphenol	0,53	1,10
m-Kresol	0,31	0,64	m-Äthylphenol	0,49	1,02
p-Kresol	0,31	0,65	p-Äthylphenol	0,49	1,02
2,3-Dimethylphenol	0,44	0,92	o-Propylphenol	0,65	1,35
2,4-Dimethylphenol	0,48	1,00	p-Propylphenol	0,62	1,30
2,5-Dimethylphenol	0,47	0,98			
2,6-Dimethylphenol	0,51	1,06	2,4,6-Trimethylphenol	0,63	1,30
3,4-Dimethylphenol	0,41	0,86	2,3,5-Trimethylphenol	0,55	1,15
3,5-Dimethylphenol	0,46	0,95			

Weniger stark, jedoch noch immer deutlich erkennbar und gut reproduzierbar sind die Unterschiede der R_F-Werte von isomeren Phenolen. In Tabelle 3 sind die R_F-Werte der Aryloxyessigsäuren von einigen Gruppen isomerer Phenole zusammengestellt. Daraus geht hervor, daß die Besetzung der Orthostellung zur Oxygruppe mit einem Alkylrest eine stärkere Erhöhung des R_F-Wertes hervorruft, als die Besetzung der Meta- oder Parastellung mit dem gleichen Substituenten. Der Unterschied, der sich aus der Besetzung der Meta- oder Parastellung ergibt, ist nur sehr gering. Bei mehrfach substituierten Phenolen jedoch scheint auch die Stellung der Alkylreste zueinander einen Einfluß auf die R_F-Werte auszuüben.

Tabelle 4.

Substitution der Phenole	R_F-Werte der Aryloxyessigsäuren
Unsubstituiert	0,17
Mit 1 C-Atom	0,31—0,33
„ 2 C-Atomen	0,44—0,53
„ 3 „	0,55—0,66
„ 4 „	0,65—0,70
„ 5 „	0,70

Aus den erhaltenen R_F-Werten geht hervor, wie die Zusammenstellung in Tabelle 4 beweist, daß eine Auftrennung der einwertigen Phenole nach der C-Anzahl ihrer Substituenten ohne weiteres möglich ist. Dies scheint besonders wertvoll für den Nachweis von Phenolen aus komplexen Gemischen, da in einem einfachen Übersichtschromatogramm eine Aufteilung der Mono-oxybenzole nach ihren Substituenten möglich ist. Wie oben bereits erwähnt (S. 154), gelang uns so eine Bestimmung technischer Phenolgemische.

Abb. 1 zeigt ein solches Chromatogramm, in dem eine Trennung der Gruppen C_1 bis C_5 klar erkennbar ist.

Auch die Trennung von Isomeren läßt sich in einigen Fällen, z. B. bei 2,6- und 3,4-Dimethylphenol und bei 2,4,6- und 2,4,5-Trimethylphenol bereits im normalen Chromatogramm durchführen. Bei anderen Isomeren, z. B. bei o- und p-Kresol, ist zwar ein Unterschied des R_F-Wertes vorhanden, der zur Identifizierung einer einzelnen Substanz durch Vergleich mit Chromatogrammen bekannter Substanzen

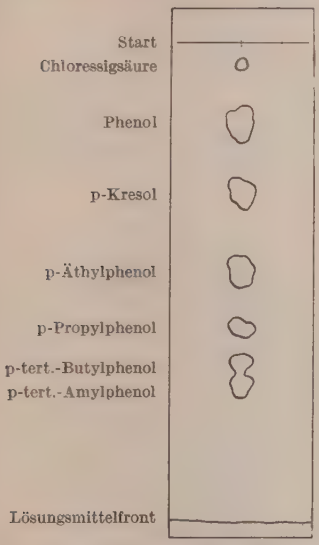


Abb. 1. Auftrennung der Phenole nach der C-Anzahl ihrer Substituenten. [WHATMAN, Nr. 1, Isoamylalkohol-Ammoniak-Wasser (30:15:5) 20 Stunden.]

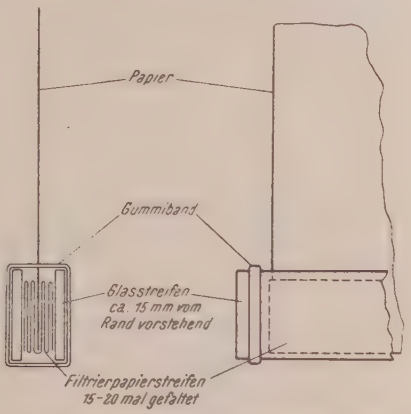


Abb. 2. Anordnung zur Ausführung von Durchlaufchromatogrammen.

genügt, jedoch nicht groß genug ist, um eine Trennung aus einem Gemisch zuzulassen. Eine solche Trennung kann in vielen derartigen Fällen mit der Methode der Durchlaufchromatographie erzielt werden. Läßt man das Lösungsmittel die zwei- bis dreifache Zeit eines normalen Chromatogramms laufen, so genügt die Verlängerung der Wanderungsstrecken bereits, um eine Trennung von verschiedenen Gemischen, etwa von o- und p-Kresol herbeizuführen.

Zur Aufnahme des dabei vom unteren Rand des Chromatogramms überschüssig abtropfenden Lösungsmittels verwenden wir eine einfache Anordnung, die sich gut bewährt hat und die in Abb. 2 wiedergegeben ist. Das bloße Abtropfen des Lösungsmittels geht nämlich selbst bei ausgezacktem unterem Papierrand nicht kontinuierlich vor sich; dadurch treten Stauungseffekte auf, die zur Streifenbildung im entwickelten Chromatogramm führen.

Eine auf diese Weise erhaltene Auftrennung von Isomerengemischen zeigt Abb. 3.

Die Anwendung der neuen Methode zum Nachweis anderer Gruppen organischer Säuren sowie die Einführung saurer Substituenten zur

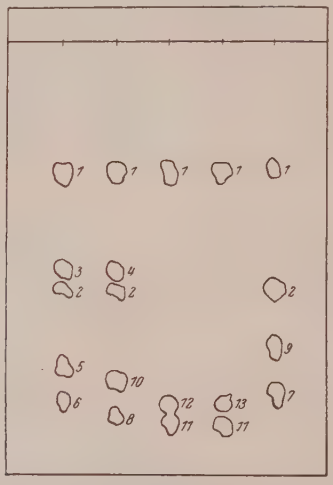


Abb. 3. Auftrennung isomerer Phenole durch Durchlaufchromatographie. [WHATMAN, Nr. 1, Isoamylalkohol-Ammoniak-Wasser (30:15:5) 50 Stunden.]

1 Phenol.
2 o-Kresol.
3 m-Kresol.
4 p-Kresol.
5 2,3-Dimethylphenol.
6 2,4-Dimethylphenol.
7 2,5-Dimethylphenol.
8 2,6-Dimethylphenol.
9 3,4-Dimethylphenol.
10 3,5-Dimethylphenol.
11 o-Äthylphenol.
12 m-Äthylphenol.
13 p-Äthylphenol.

Charakterisierung papierchromatographisch sonst nicht nachweisbarer Verbindungsklassen wird gegenwärtig untersucht. Hierüber soll später berichtet werden.

Dem Vorstand unseres Institutes, Herrn Prof. Dr. *F. Wessely*, sei auch an dieser Stelle für seine wertvollen Anregungen und das fördernde Interesse an unserer Arbeit bestens gedankt.

Zusammenfassung.

Alkylsubstituierte einwertige Phenole können papierchromatographisch in einfacher Weise in Form ihrer Aryloxyessigsäuren getrennt und nachgewiesen werden. Zum Nachweis dieser und anderer organischer Säuren am Papier wurde die p_H-Abhängigkeit der Fluoreszenz einer Umbelliferonlösung benutzt, wobei die Säuren im UV. als schwarze Flecke auf helleuchtendem Grund erscheinen.

Summary.

Alkyl-substituted univalent phenols can be separated in simple fashion by paper chromatography and identified in the form of their aryloxyacetic acids. To detect these and other organic acids on paper, use was made of the p_H dependence of the fluorescence of an umbelliferone solution, whereby the acids appear in ultraviolet as black flecks on a light green luminous background.

Résumé.

Les monophénols alcoylsubstitués peuvent être séparés par chromatographie sur papier d'une maniere simple sous forme de leurs acides aryloxyacétiques et identifiés ensuite. Pour rechercher ces acides organiques et d'autres sur papier, on utilise la relation entre la fluorescence d'une solution d'ombelliférone et le p_H grâce à laquelle les acides apparaissent en UV. sous forme de taches noires sur fond vert clair.

Literatur.

[1] *F. Cramer*, Papierchromatographie. Verlag Chemie. 1952, S. 58. — *R. J. Block*, *R. Le Strange* und *G. Zweig*, Paperchromatography, Academic Press New York. 1952, S. 123.

[2] S. z. B.: *R. A. Evans*, *W. H. Parr* und *W. C. Evans*, Nature **164**, 674 (1949). — *E. C. Bate-Smith*, Biochim. Biophys. Acta **4**, 427 (1950). — *R. F. Riley*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 5782 (1950). — *J. A. Durant*, Nature **169**, 1063 (1952). — *J. H. Freeman*, Analyt. Chemistry **24**, 955 (1952).

[3] *R. L. Hossfeld*, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 852 (1951).

[4] Z. B. Organic Reagents for Organic Analysis, Hopkin & Williams, London **1944**, S. **43**, **155**.

[5] *Q. F. Soper* und Mitarb., J. Amer. Chem. Soc. **70**, 2849 (1948).

[6] *M. Haitinger*, Fluoreszenzanalyse. E. Haim & Co., Wien-Leipzig 1937, S. **67**.

[7] *R. Robl*, Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 1725 (1926).

[8] *H. Linser*, Biochem. Z. **244**, 157 (1932).

Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn.

Zum Nachweis von Sauerstoff in organischen Verbindungen.

Von

J. Goerdeler und **H. Domgörgen.**

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 15. Oktober 1952.)

Viele Lehr- und Laboratoriumsbücher geben zwar eingehende Beschreibungen von Methoden, mit denen die üblichen Elemente in organischen Substanzen nachgewiesen werden können, nur der Nachweis des Sauerstoffes ist meist gar nicht erwähnt. Dabei besteht aber gar kein Zweifel, daß die Kenntnis der An- oder Abwesenheit von Sauerstoff oft erwünscht ist; indirekt auf dieses Element zu schließen, ist ebenso unbefriedigend wie früher das Berechnen des Sauerstoffgehaltes „aus der Differenz".

Die Literatur enthält einige Versuche, diese Lücke auszufüllen. Die Tatsache, daß sich Jod in Kohlenwasserstoffen mit violetter, in sauerstoffhaltigen Lösungsmitteln mit brauner Farbe löst, wurde von *Piccard*[1], eingehender von *Wüstner*[2] vom analytischen Gesichtspunkt aus untersucht. Eine andere Farbreaktion gab *Davidson*[3] an. Der tiefrote Ferrirhodanidkomplex löst sich nicht in Kohlenwasserstoffen und ihren Halogenderivaten, diese Flüssigkeiten bleiben somit in Berührung mit einem entsprechenden Reagenspapier farblos. Wir haben beide Methoden verglichen. Hierzu schien zunächst wünschenswert, den Substanzbedarf der Originalvorschriften (*Wüstner:* 2 ml, *Davidson:* einige Tropfen) zu verringern. Durch Verwendung von Objektträgern bzw. Kapillarröhrchen bereitete es keine Schwierigkeit, die Jodreaktion mit 3 mg und weniger (Flüssigkeit oder Schmelze) auszuführen. Bei der Ferrirhodanidmethode mußte zu diesem Zweck von dem von *Davidson* angegebenen Reagenspapier, das bei Mengen über 50 mg sehr praktisch ist, abgegangen werden. Statt dessen bewährten sich kleine Glasstäbchen, die in eine ätherische Ferrirhodanidlösung getunkt worden waren. Die Prüfung geschah durch Eintauchen der benetzten Enden in die Probeflüssigkeit.

Mit dieser Methode ließen sich auch die Schmelzen vieler niedrigschmelzender Stoffe untersuchen. Diese Erweiterung war deshalb nützlich, weil es sich gezeigt hatte, daß Lösungen bisweilen nicht die richtigen Ergebnisse lieferten. — Die Stäbchen reagierten zudem merklich empfindlicher als das Papier. So traten z. B. die erwarteten Farbreaktionen mit Oxalsäure-diäthylester, Mandelsäure-äthylester und den benzolischen Lösungen von Benzil und Stearinsäure mit Reagenspapier nicht, wohl aber mit den Stäbchen ein.

Beiden Methoden ist gemeinsam, daß sie bei stark gefärbten und bei festen, zugleich schwer löslichen und hochschmelzenden Substanzen versagen bzw. unsicher werden. Eine sehr wesentliche Einschränkung liegt ferner in der notwendigen Abwesenheit der Elemente Stickstoff und Schwefel, worauf *Davidson* bei seiner Methode ausdrücklich hingewiesen hat (für die Jodmethode vgl. auch *Estreicher*[4]). Innerhalb dieser Grenzen zeigte ein eingehender Vergleich, daß die Ferrirhodanidmethode klar überlegen ist. Von rund 160 untersuchten Substanzen aus sehr verschiedenen Verbindungsklassen wurden mit Rhodanid sechs Versager beobachtet, mit Jod 15. Letztere befolgten keine erkennbare Regel, bei den ersteren (Diphenyläther, p-Brom-diphenyläther, Dinaphthyläther, Tritylmethyl-äther, β-Naphthol, Hydrochinon) handelt es sich hauptsächlich um höhermolekulare Äther, deren anomales Verhalten *Davidson* schon erwähnt hat. Auch wurde hier niemals, anders als beim Jod, Sauerstoffgehalt vorgetäuscht. Infolgedessen ist, wie wir bestätigen können, das Auftreten von roter oder violetter Farbe beim Prüfen mit Ferrirhodanid stets beweisend (immer die Abwesenheit von Stickstoff usw. vorausgesetzt). Ein negativer Befund ist dagegen in seiner Auswertung etwas unsicher.

Um zu einer *allgemein* anwendbaren Analysenmethode zu gelangen, hielten wir es für notwendig — wie bei den quantitativen Verfahren — das mehr oder weniger komplizierte organische Molekül zuerst in einfache Bruchstücke zu zerschlagen. Als einfachstes Mittel bot sich die thermische Zersetzung an. Bei einem genügend weitgehenden Abbau müßte sich die Anwesenheit von Sauerstoff durch das Auftreten von Kohlenoxyd oder Kohlendioxyd bzw. einem Gemisch beider verraten, wenn für Luftabschluß gesorgt wird. Die Feststellung eines der beiden Gase sollte also beweisend sein. Wir kamen in praxi zum Ziel mit einer Anordnung, bei der die zu prüfende Substanz (3 bis 5 mg) in einem Schiffchen, das sich in einem Supremaxrohr befindet, im Stickstoffstrom erhitzt wird. Die Gase werden über einen Platinkontakt, dann durch eine Kupferchlorürlösung geleitet. Das in der Vorlage absorbierte Kohlenoxyd wird nach *Winkler*[5] mit Palladiumchlorür nachgewiesen. Diese Anordnung bewährte sich bei Substanzen, die außer Kohlenstoff, Wasserstoff noch eventuell Sauerstoff, Stickstoff und Halogen enthielten. Ist

die Verbindung schwefelhaltig, so muß vor das Kupferchlorür zur Bindung von Schwefelwasserstoff ein alkalisches Absorptionsmittel geschaltet werden. Es empfiehlt sich eine gesättigte Barytlösung, da diese gleichzeitig zum Kohlendioxydnachweis dient. In einigen Fällen — es handelte sich ausschließlich um Sulfonamide — erwies sich dieser Kohlendioxydnachweis als unerläßlich, weil hier unter den üblichen Bedingungen keine merkliche Menge Kohlenoxyd entstand. (Es gibt umgekehrt viele Substanzen, bei denen trotz der Anwesenheit von Sauerstoff praktisch kein Kohlendioxyd auftritt.)

Die Methode kann nach den bisher vorliegenden Erfahrungen als zuverlässig bezeichnet werden. Über 200 untersuchte organische Verbindungen aus verschiedenen Klassen, teils mit, teils ohne Sauerstoff, Halogen, Stickstoff und Schwefel, gaben die richtigen Ergebnisse. Von 75 Testsubstanzen, die einem Untersuchenden unbekannt waren, wurden 72 sofort richtig analysiert. Zwei falsche Resultate beruhten auf Verunreinigungen; das dritte ließ sich nicht aufklären, Wiederholung brachte das richtige Ergebnis.

Ein Versuch, das Verfahren von *Bowen*[6] (Krackung der Substanz, Transport mit Kohlenwasserstoffdampf über einen heißen Kohlekontakt und Absorption in Baryt) mit kleinen Mengen (< 50 mg) auszuführen — die Verfasser nehmen 1 g —, gab keine brauchbaren Ergebnisse, weil es mit einfachen Mitteln nicht möglich war, blindwertfreie Kohlekontakte zu erhalten. Das gleiche Bedenken sprach gegen die Methode von *Iwanei*[7].

Experimentelles.

a) Mikromethodik für den Sauerstoffnachweis mit *Ferrirhodanid:*

Man benötigt eine ätherische Ferrirhodanidlösung, die wie folgt hergestellt werden kann: 5 g Kaliumrhodanid und 4 g Ferrichlorid (Hexahydrat) werden in je 20 ml Wasser gelöst, vereinigt und mit 30 ml Äther ausgeschüttelt. Der Ätherextrakt ist unmittelbar verwendungsfähig und — verschlossen im Dunkeln aufbewahrt — längere Zeit haltbar.

Kleine Glasstäbchen werden mit einem Ende einige Millimeter in die Lösung eingetaucht. Nach dem Herausnehmen und Verdunsten des Äthers bleibt eine geeignete Menge Eisenrhodanid haften. Auch die Stäbchen sind, falls verschlossen aufbewahrt, längere Zeit verwendungsfähig.

Zum Nachweis bringt man einen kleinen Tropfen der zu untersuchenden Substanz mit Hilfe einer Kapillare auf einen Objektträger oder in ein Mikroreagensglas und rührt darin mit dem Stäbchen. Bei Anwesenheit von Sauerstoff nimmt der Tropfen eine hellrote bis dunkelviolette Farbe an, Kohlenwasserstoffe und ihre Halogenderivate bleiben farblos. Feste Substanzen werden vorher vorsichtig auf dem Objekt-

träger geschmolzen; Zersetzungserscheinungen des Rhodanids können hierbei eine Beobachtung unmöglich machen. In diesem Falle versucht man, mit einer möglichst konzentrierten Lösung in einem geeigneten Lösungsmittel ein Ergebnis zu erhalten. — Das Auftreten einer roten bis violetten Farbe bei Abwesenheit von Stickstoff und Schwefel ist beweisend, Farblosigkeit nicht unbedingt.

Für noch kleinere Mengen und für leicht flüchtige Stoffe arbeitet man mit Kapillaren, die unten nochmals fein ausgezogen sind. Man läßt von unten etwas Flüssigkeit aufsteigen und rührt von oben mit dem Stäbchen.

Eine analoge Arbeitsweise erlaubt auch die Durchführung des Sauerstoffnachweises mittels Jod mit kleinen Mengen. Man benutzt Glasstäbchen, an deren einem Ende ein Jodsplitter haftet.

b) Sauerstoffnachweis durch *thermische Zersetzung:*

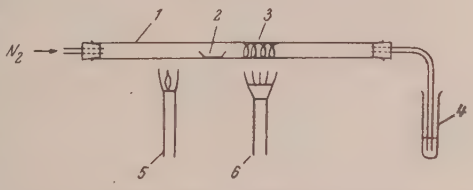


Abb. 1. Apparatur für den Nachweis von Sauerstoff.

Benötigte Geräte (siehe Abb. 1): 1 Verbrennungsrohr (Supremax), zirka 1 cm Durchmesser, 35 cm Länge (1), 1 Mikroverbrennungsschiffchen (2), 1 Platinkontakt (Blech oder Drahtspirale) (3), 2 Reagensgläser als Vorlage (zirka 12 × 60 mm) (4), 1 Teclubrenner (5), 1 Teclubrenner mit Breitaufsatz (6), Gummistopfen und Verbindungsrohre, 1 Stickstoffbombe (besondere Reinigung des Gases ist nicht notwendig).

Benötigte Lösungen: Kupferchlorürlösung, die durch Schütteln von 5 g Kupferchlorür in 40 ml mit Kochsalz gesättigtem dest. Wasser im verschlossenen Gefäß hergestellt wird. Sie wird vom Ungelösten abgegossen und ist sofort gebrauchsfertig; Haltbarkeit einige Stunden.

Käufliche Palladiumchlorürlösung („für den Leuchtgasnachweis").

Gesättigte wäßrige Bariumhydroxydlösung.

Handelt es sich um eine schwefelhaltige Substanz, so müssen zwei Reagensgläser als Vorlagen hintereinander geschaltet werden; in das erste kommt die Barytlösung (zirka 3 ml), in das zweite die Kupferchlorürlösung (zirka 1 ml). In das Schiffchen werden 3 bis 5 mg Substanz gegeben. Durch Einleiten von Stickstoff wird die Luft aus dem Rohr verdrängt (zirka 1 Min.). Mit dem voll aufgedrehten Breitbrenner erhitzt man den Platinkontakt und bringt nach Abstellen des Stickstoffstromes die Vorlage (bzw. die Vorlagen) an. Mit dem Teclubrenner wird dann die Zersetzung der Substanz in der üblichen Weise durchgeführt (2 Min.). Treten keine Gasblasen mehr auf, spült man mit Stickstoff nach und löscht die Brenner. Entweichen aus der Vorlage fast keine Zersetzungsdämpfe mehr (1 bis 2 Min.), so entfernt man das

Reagensglas, füllt es bis fast zum oberen Rand mit dest. Wasser (wobei Kupferchlorür ausfällt) und schwenkt um. Aus geringer Höhe läßt man vorsichtig mit der Pipette wenige Tropfen Palladiumchlorürlösung auf die Mitte des Flüssigkeitsspiegels fallen. Hierbei bildet sich oben ein Ring aus, der bei Anwesenheit von Kohlenoxyd — und damit von Sauerstoff in der Substanz — sich sogleich oder in kurzer Zeit von gelb nach schwarz verfärbt, andernfalls längere Zeit gelb bleibt. — Falls Baryt vorgeschaltet war, ist auch ein Bariumkarbonat-Niederschlag beweisend (Prüfung mit Salzsäure!).

Zusammenfassung.

Die Nachweismethoden für Sauerstoff in organischen Verbindungen von *Piccard* bzw. *Wüstner* — Jodfarbe — sowie *Davidson* — Solvatation von Ferrirhodanid — wurden für Proben von wenigen Milligramm abgewandelt. — Ein Vergleich beider Verfahren zeigte, daß die *Davidson*-Methode überlegen ist. Auch sie ist jedoch nur innerhalb bestimmter Grenzen anwendbar.

Ein weiteres Nachweisverfahren für Sauerstoff wird beschrieben, das auch bei Anwesenheit von Stickstoff und Schwefel richtige Ergebnisse liefert. Es beruht auf der thermischen Zersetzung der zu analysierenden Substanz an einem Platinkontakt und Nachweis des entstehenden Kohlenoxyds bzw. Kohlendioxyds.

Summary.

The methods of detecting oxygen in organic compounds proposed by *Piccard* or *Wüstner* — iodine color — and *Davidson* — solvation of ferrithiocyanate — were modified for samples of several milligrams. A comparison of the two methods showed that the *Davidson* method is superior. However, even it is applicable only within certain limits. An additional procedure for detecting oxygen is described; it gives correct results even in the presence of nitrogen and sulfur. It is based on the thermal decomposition of the material on a platinum contact and detection of the resulting carbon monoxide or dioxide.

Résumé.

Les méthodes de recherches de l'oxygène dans les substances organiques de *Piccard* ou de *Wüstner* — coloration de l'iode — ou de *Davidson* — solvatation avec le thiocyanate ferrique — ont été modifiées pour des échantillons de quelques milligrammes. Une comparaison des deux procédés a montré que la méthode de *Davidson* est supérieure; elle n'est toutefois utilisable que dans des limites déterminées. On décrit un autre mode de recherche de l'oxygène qui conduit à des résultats corrects en présence d'azote et de soufre. Il repose sur la décomposition thermique de la substance analysée sur un contact de platine et la recherche de l'oxyde de carbone ou du gaz carbonique formé.

Literatur.

[1] *J. Piccard*, Helv. Chim. Acta **5**, 243 (1922).
[2] *H. Wüstner*, Z. analyt. Chem. **87**, 114; **88**, 194 (1932).
[3] *D. Davidson*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Ed. **12**, 40 (1940).
[4] *T. A. D. Estreicher*, Z. analyt. Chem. **89**, 126 (1932).
[5] *C. Winkler*, Z. analyt. Chem. **28**, 269 (1889).
[6] *C. V. Bowen, J. F. Bourland* und *E. F. Degering*, J. Chem. Education **16**, 295 (1939); Chem. Zbl. **1939 II**, 1935.
[7] *I. F. Iwanei*, J. chim. appl. (russ.) **12**, 470 (1939); Chem. Zbl. **1940 I**, 2834.

Microchemistry Laboratory, Chemistry Department,
The Queen's University of Belfast, Northern Ireland.

Chemical Analysis on the Microgram Scale. II.

Separation and Identification of Lead, Mercurous Mercury, Silver, and Tungstate.

By

Hamed M. El-Badry and **Cecil L. Wilson.**

(Received October 20, 1952.)

Qualitative analysis on the microgram scale necessarily involves a number of modifications of technique from the procedures usual either on the classical or on the milligram scale. Certain techniques are physically impossible on the smaller scale, and in consequence will require complete replacement. Others, not completely impracticable, are preferably replaced because of the marked difficulties which are encountered if the principle of direct reduction is applied.

It would not, for example, be possible to bubble a gas directly through a solution on the microgram scale. *Benedetti-Pichler* and his co-workers have, however, shown[1] that by a very neat device it is possible to saturate a solution with a gas on this scale, and therefore to modify the normal scheme of analysis depending on the use of sulphuretted hydrogen, so as to utilise it for microgram qualitative analysis. The present authors felt, however, that if it were possible to eliminate the use of sulphuretted hydrogen, as has been done by various workers on the classical and the milligram scales[2], considerable simplification could be achieved. An objection to the use of non-H_2S schemes of analysis has been that they normally only include the so-called "more familiar" cations; relatively few attempts have been made to extend such schemes so as to include elements which are now met with quite commonly, although they were formerly regarded as "less familiar". Recently a non-H_2S scheme for the analysis of the more familiar cations[3] has been extended to include a number of the less familiar elements, and has been applied to small-scale (milligram) analysis[4]. It was felt that such a scheme would be

satisfactory for investigation in respect of the possibility of converting the procedures to application on the microgram scale.

In this scheme the ions are separated into six groups, one of which is further subdivided, as follows:

Group I: Sodium, potassium.

Group II: Lead, mercurous mercury, silver, tungsten.

Group III A: Titanium, zirconium, cerium, thorium.

Group III B: Lead, calcium, strontium, barium.

Group IV: Arsenic, mercuric mercury, copper, bismuth, molybdenum, tin, antimony.

Group V: Chromium, tin, aluminium, iron, manganese, titanium, zirconium.

Group VI: Zinc, manganese, vanadium, uranium, nickel, cobalt, cadmium, magnesium.

Group I is examined by a separate procedure, and the schematic analysis properly commences with Group II. The ions in Group II have therefore been examined with a view to their separation and identification on the microgram scale.

The general procedure adopted for the investigation was as follows: The apparatus and techniques employed were those already described in the first paper in this series[5]: Fifty millimicrolitres of a stock solution of the ion, containing 0.5 microgram of the element, were subjected singly to the scheme of separation, the amounts of reagents and wash liquids being reduced proportionately. The behaviour of the ion was noted, and modifications were introduced where necessary or desirable, on the basis of the experimental results. At least one confirmatory test for each ion was selected and developed on the microgram scale. Binary combinations containing 0.25 microgram of each element were then successively subjected to the final schematic procedure.

The choice of the procedure finally adopted was influenced by a number of experimental findings, of which the most important are summarised here.

1. In the milligram procedure 10 *N* hydrochloric acid is used as the group precipitant. If this is used on the microgram scale the hydrochloric acid vapour tends to precipitate the ions of the group when the container charged with the stock solution of the ion is placed on the carrier beside the container of reagent. Such precipitation can occur to an appreciable extent before the sample is measured and transferred to the working cone, and this is clearly undesirable. Because of this, 1 : 1 hydrochloric acid is recommended as the group precipitant. Even with this modification it is still considered advisable to measure the sample before introducing the reagent container of hydrochloric acid into the moist cell.

2. After precipitation with hydrochloric acid and heating for 5 minutes at 100° C, as in the milligram procedure, mercurous mercury is completely oxidised to the mercuric state, and goes into solution. Consequently it is no longer properly included in the scheme of resolution for Group II. It will pass on to Group IV and be detected as mercuric mercury. The presence of mercurous mercury in the original solution must be confirmed on a fresh sample, dispensing with the heating procedure and treating with ammonia.

3. The extraction of lead chloride by hot water, as in the milligram procedure, is not practicable on the microgram scale. Lead chloride reprecipitates in the shaft of the pipette during transference of the water extracts to the cone in which confirmatory tests are to be carried out. The water extracts then fail to give satisfactory confirmatory tests. The use of 10 per cent ammonium acetate solution for extraction of lead chloride in the cold proves to be satisfactory, extraction and transference giving no trouble, and positive confirmatory tests always being obtained.

As a general principle it would seem imperative that where a precipitate must be extracted on the microgram scale a solvent should be chosen in which the material remains in solution in the cold.

4. Extraction with ammonium acetate in the cold leaves silver and tungsten undissolved.

5. Unexpectedly, the milligram procedure by which silver chloride is extracted by ammonia and reprecipitated as silver iodide, to separate it from tungsten, proves difficult. In the process of dissolution a considerable loss of silver chloride is found to occur. The reprecipitation as silver iodide from the ammoniacal solution proves to be tedious and time-consuming. An adjustment of the p_H, difficult to carry out on the microgram scale, is necessary. Finally, confirmatory tests on the very small amounts of silver iodide that are recovered give unreliable results. In contrast, the yellow tungstic acid can be dealt with by a direct reduction of the milligram procedure.

6. Five per cent potassium cyanide solution can be used as a solvent for silver chloride and tungstic acid, either separately or for the combined precipitate from the two ions when they occur together. Both ions can then be identified in the presence of each other in the cyanide solution.

Experimental.

The scheme finally adopted for the resolution of the elements is given below: —

Reagents: Hydrochloric acid, 5 *N*. Ammonium acetate, 10 per cent aqueous. Potassium cyanide, 5 per cent aqueous.

Group II.

Treat 50 mλ of the original solution with an approximately equal volume of 5 *N* HCl in a micro cone. Seal the cone in a heating capillary, centrifuge lightly, and heat for 5 minutes just below 100° C. Place the sealed capillary in cold water for about 15 minutes. Centrifuge the cone and transfer it to the carrier.

S 1

Oxidised Hg_2^{++} and subsequent groups. If the presence of Hg_2^{++} is suspected, confirm on a fresh sample.

R 1

Wash twice with about 10 to 20 mλ of distilled water from a container. Add about 30 mλ of 10 per cent ammonium acetate solution, agitate, and centrifuge lightly. Repeat the extraction twice, using about 20 mλ portions of the ammonium acetate solution, and combining all the extracts in a single receiving cone. Wash the residue with about 20 mλ of distilled water, and discard this washing.

S 2

Test for *Lead*

R 2

Add approximately 30 mλ of 5 per cent KCN. Agitate, and heat for a few minutes in a heating capillary at 80–90° C. Centrifuge lightly. Repeat the extraction till the precipitate has been completely dissolved, combining all the extracts in a single receiving cone. Divide the combined extracts into two equal portions.

S 3

Test for *Tungsten*

S 4

Test for *Silver*

Confirmatory Tests.

Lead:

(1) Dithizone Test.

Reagents: Diphenylthiocarbazone, 0.05 per cent in carbon tetrachloride.

As the solution of this reagent is unstable, it should be freshly prepared every few days.

Potassium cyanide, saturated aqueous (lead-free).

Ordinary "pure" potassium cyanide often contains traces of lead which give positive results with the dithizone test. *AnalaR* potassium cyanide appears to be lead-free, but it is advisable to carry out a blank test with the potassium cyanide used.

Ammonium acetate, 10 per cent aqueous.

Procedure: Deliver approximately 20 mλ of the test solution by a thoroughly clean pipette to a cone. Add approximately the same volume of the potassium cyanide solution and agitate the contents of the cone by the shaft of the pipette. Wash out the pipette once with distilled water (from the syringe), several times with ammonium acetate solution, and again with distilled water. Care must be taken to wash also that portion of the outside of the shaft which will be introduced into the cone.

Take up about 20 mλ of dithizone solution into the pipette. Any change of colour from green to red at this stage indicates that the pipette is not completely clean. If the reagent remains unchanged in colour it is slowly transferred to the cone.

If lead is present the green reagent turns red. The reagent and test solution may be agitated lightly by means of the pipette, but using stock solutions the change is almost immediate, and there is no necessity for such agitation. This test is excellent, its main drawback being its extreme sensitivity. Every precaution must be taken to ensure that the pipette, cone, reagents and wash liquid are completely lead-free.

(2) Potassium Chromate Test.

Reagent: Potassium chromate, saturated aqueous.

Procedure: Treat 20–30 mλ of the test solution in a cone with an approximately equal volume of the reagent solution. If lead is present yellow lead chromate separates out. This test may also be performed on the plateau of the condenser rod.

Mercurous Mercury: Ammonia Test.

Reagents: Hydrochloric acid, 5 *N*. Ammonia, sp. gr. 0.88.

Procedure: Treat 20–30 mλ of the sample with an approximately equal volume of hydrochloric acid in a cone. Centrifuge, and replace the cone on the carrier. Remove the supernatant liquid, wash the precipitate

with about 30 mλ of distilled water from a container, and then add about 30 mλ of ammonia, without agitation. If mercurous mercury is present the precipitate turns dark grey or black, as seen either by transmitted or reflected light.

Silver: *p*-Dimethylaminobenzalrhodanine Test.

Reagents: *p*-Dimethylaminobenzalrhodanine, saturated acetone solution.

Nitric acid, 2 *N*.

Procedure: Impregnate a fine cotton thread fixed on a holder with p-dimethylaminobenzalrhodanine throughout most of its length. Place the holder on a carrier so that the thread is horizontal. Add about 20 mλ of the test solution to the thread, and follow this with approximately 20 mλ of nitric acid. If silver is present a violet colour is developed. This can readily be distinguished from the portion of the thread coloured by reagent only, which remains orange. The colour is best observed by reflected light.

Even better results may be obtained by applying the silver solution to the thread first, followed by the reagent, and finally by the nitric acid.

Tungsten: Stannous Chloride Test.

Reagent: Stannous chloride, 25 per cent in hydrochloric acid, 10 *N*.

Procedure: Transfer 20–30 mλ of the test solution to the plateau of the condenser rod. Open the cover of the moist cell partially to allow this to come almost to dryness. Then transfer an approximately similar volume to the plateau so as to cover the film left by the test drop. If tungsten is present a blue precipitate is gradually produced. This is best seen by applying illumination from the side through the base of the condenser rod.

Summary.

The separation and identification of lead, mercurous mercury, silver and tungstate on the microgram scale are described, these ions being treated as Group II of a non-H_2S schematic analysis.

Zusammenfassung.

Trennung und Nachweis der Elemente Blei, Quecksilber(I), Silber und Wolfram werden für die Ausführung im Mikrogramm-Maßstab beschrieben. Diese Ionen werden als 2. Gruppe eines Analysenganges behandelt, der nicht dem Schwefelwasserstoffgang entspricht.

Résumé.

On décrit la séparation et l'identification du plomb, du mercure mercureux, de l'argent et du tungstène à l'échelle du microgramme, ces ions étant considérés comme formant le groupe II d'une analyse schématique sans H_2S.

References.

[1] *A. A. Benedetti-Pichler*, Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1942.

[2] *F. R. M. McDonnell* and *C. L. Wilson*, Metallurgia **39**, 280, 336 (1949); **40**, 61, 115, 339 (1949).

[3] *A. J. Mee*, A New System of Elementary Qualitative Analysis, Dent, London, 1942.

[4] *H. M. El-Badry*, *F. R. M. McDonnell* and *C. L. Wilson*, Analyt. Chim. Acta **4**, 440 (1950).

[5] *H. M. El-Badry* and *C. L. Wilson*, Mikrochem. **40**, 141 (1952).

Microchemistry Laboratory, Chemistry Department,
The Queen's University of Belfast, Northern Ireland.

Chemical Analysis on the Microgram Scale. III.

Semi-Quantitative Estimation of Lead, Mercurous Mercury, Silver, and Tungsten.

By

Hamed M. El-Badry and **Cecil L. Wilson.**

(Received October 20, 1952.)

The gravimetric estimation of lead, mercurous mercury and silver on the microgram scale has been described elsewhere by the present authors[1]. Where a microgram balance is not available, however, it is possible, as shown by *Benedetti-Pichler*[2], to use the volume of a precipitate as an indication of the amount of ion present in a solution, in work on the microgram scale, if suitable precipitating forms are used. The estimate of the amount is made by comparison of the volume with that obtained by a similar treatment of a known volume of a solution of known concentration of the same ion.

The method of measuring the volume has already been described[3], and the apparatus and techniques used throughout are similar to those used for qualitative analysis[3,4]. As far as possible reactions are used which have already been applied in the qualitative analysis of these elements according to the non-H_2S scheme[4,5]. Much depends, however, on obtaining a precipitate which is fine, but not gelatinous, and which compacts thoroughly and reproducibly. For example, numerous trials showed that lead chloride is quite unsatisfactory as a measure of lead content (even when comparing two solutions of approximately equal concentrations, and bearing in mind the relatively high solubility of lead chloride) because of the large crystals of the substance which form, and which fail to pack uniformly. Some other precipitant than hydrochloric acid had therefore to be found for this ion.

In the following part of this paper the procedures for obtaining satisfactory precipitates are described, together with the results for each ion obtained over a series of determinations. These results indicate the amount of deviation to be expected in each of the estimations. The

experimental investigation was carried out with stock solutions containing 0.5 γ of the element in 50 mλ of solution.

The measurements required for the estimation of the volume of the precipitate have already been specified when dealing with the technique of microgram analysis. Care must be taken to ensure a constant mode of centrifuging, either by a fixed time of centrifuging on an electrically driven instrument, or by giving a fixed number, say 20, turns of the crank of a hand-driven instrument at as reproducible a rate as possible. This latter procedure gives quite satisfactory results.

1. Estimation of Lead as Lead Chromate.

Procedure: Fifty millimicrolitres of the stock solution (lead chloride in 10 per cent ammonium acetate) are treated with an approximately equal volume of concentrated aqueous potassium chromate solution. The cone is centrifuged, and the volume of precipitate is measured.

The following values (arranged in order of increasing magnitude) were obtained in ten experiments, expressed in terms of millimicrolitres of precipitate per microgram of lead (mλ/γ Pb).

28 28 30 32 32 32 32 34 34 34

Mean value	32 mλ/γ Pb
Standard deviation for a single determination	$\pm$ 2 mλ/γ Pb
Coefficient of variation	7 per cent

If separation is carried out according to the scheme for qualitative analysis, then such lead as is precipitated as the chloride may then be dissolved in ammonium acetate and estimated semi-quantitatively as the chromate with the accuracy quoted.

2. Estimation of Mercurous Mercury.

Using the schematic procedure already described[4] it is clear that the estimation of mercurous mercury is not possible because of the oxidation to the mercuric form. However, if the chloride is centrifuged before the heating procedure, the form in which the precipitate is produced is suitable for volume estimation.

Procedure: Fifty millimicrolitres of stock solution of mercurous mercury are treated with an approximately equal volume of 5 *N* hydrochloric acid in a cone. The cone is centrifuged without heating. The fine white precipitate gathers in a compact mass at the tip of the cone, and is measured.

The following amounts (in mλ/γ Hg) arranged in order of increasing magnitude were obtained in ten experiments.

9.0 9.4 9.6 10.4 10.8 11.2 11.4 12.2 12.4 12.8

Mean value	10.9 mλ/γ Hg
Standard deviation for a single determination	$\pm$ 1.3 mλ/γ Hg
Coefficient of variation	12 per cent

3. Estimation of Silver.

The silver chloride precipitate, if centrifuged without heating, gathers in a form quite suitable for the estimation of volume, being generally quite compact, and following the shape of the cone. If the cone is heated before centrifuging the precipitate usually gathers in a rather irregular mass, and greater differences are obtained in a series of volumes of silver chloride derived from the same mass of cation.

Procedure: Fifty millimicrolitres of stock solution of silver are treated with an approximately equal volume of 5 *N* hydrochloric acid in a cone. The cone is centrifuged without heating. The volume of the precipitate is measured.

The following amounts (in $m\lambda/\gamma$ Ag) arranged in order of increasing magnitude were obtained in ten experiments:

11.4	11.8	11.8	12.2	12.8	13.8	14.2	14.6	15.8	16.0

Mean value	13.4 $m\lambda/\gamma$ Ag
Standard deviation for a single determination	$\pm$ 1.7 $m\lambda/\gamma$ Ag
Coefficient of variation	13 per cent

4. Estimation of Tungsten.

The sedimetric estimation of tungsten as the white amorphous tungstic oxide, by adding hydrochloric acid and centrifuging without heating, is not practicable owing to the solubility of the precipitate. Satisfactory results may be obtained by estimating the element as the yellow insoluble tungstic acid formed after heating for 5 minutes just below 100° C, according to the qualitative microgram procedure. In this procedure precipitation is complete.

After centrifuging, the yellow precipitate, which is rather gelatinous in appearance, gathers in a compact form which takes the shape of the cone readily. The volume of yellow tungstic acid obtained by solution of this precipitate in ammonia, re-precipitating by hydrochloric acid or nitric acid, heating and centrifuging, are very close to those obtained in the first precipitation, but appear to vary somewhat less.

Procedure: Fifty millimicrolitres of stock solution of tungsten are treated with an approximately equal volume of 5 *N* hydrochloric acid in a cone, heated for 5 minutes just below 100° C, and centrifuged. The volume of the precipitate is estimated. The amounts (in $m\lambda/\gamma$ W), arranged in order of increasing magnitude, obtained in a series of experiments are expressed in Table I as Series I. After the estimation the precipitate was redissolved by adding about 50 $m\lambda$ of 0.88 ammonia and agitating slightly in the cold. Excess of hydrochloric acid or nitric acid (indicated in the Table) was added, and the precipitate was heated and centrifuged as before. The results are expressed as Series II.

Table I.

Series I	14.4 HCl	14.4 HCl	* HNO_3	15.8 HCl	16.0 HCl	16.0 HCl	17.4 HNO_3	17.6 HNO_3	17.9 —	19.6 HCl	19.6 HCl
Series II	13.8	14.4	15.4	15.0	15.8	15.4	17.0	17.6	**	17.6	18.4

	Series I	Series II
Mean value	16.8	16.1 mλ/γ W
Standard deviation for a single determination ..	$\pm$ 1.9	$\pm$ 1.5 mλ/γ W
Coefficient of variation	11	9 per cent

* Dried out. — ** Not completed.

According to *Benedetti-Pichler*[1] the approximate estimation of the volume of a small quantity of precipitate is attended by the possibility of serious variation if the precipitate is gelatinous. In spite of the apparently gelatinous nature of the precipitate of tungstic acid, such increased variability is not found, and it would therefore seem that the precipitate should be regarded as amorphous rather than gelatinous. This indicates that it is not sufficient to reason directly from the appearance of a precipitate to its suitability for semi-quantitative estimation, which can only be determined by trial. Lead chloride, a crystalline precipitate, is, as we have seen, quite unsuitable, although according to the criteria laid down by *Benedetti-Pichler* it should be suitable. Tungstic acid is clearly another exception.

Conclusion.

Microgram amounts of the elements lead, mercurous mercury, silver and tungsten should be capable of determination semi-quantitatively by measurement of the volume of precipitate produced under standard conditions and comparison of this volume with that obtained from a stock solution of known concentration under the same conditions. Accuracies obtained range from 7 per cent in the case of lead as chromate to 13 per cent in the case of silver as chloride, but, speaking broadly, a 10 per cent variation may be expected.

Summary.

The semi-quantitative estimation of lead, mercurous mercury, silver and tungsten on the microgram scale, with an approximate variation of ten per cent, is described.

Zusammenfassung.

Die halbquantitative Schätzung von Blei, Quecksilber(I), Silber und Wolfram im Mikrogramm-Maßstab mit annähernder Genauigkeit von 10% wird beschrieben.

Résumé.

On décrit le dosage semi-quantitatif du plomb, du mercure mercureux, de l'argent et du tungstène à l'échelle du microgramme avec une approximation de 10%.

References.

[1] *H. M. El-Badry* and *C. L. Wilson*, Analyst **11**, 596 (1952).
[2] *A. A. Benedetti-Pichler*, Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis, John Wiley and Sons, Inc., New York. 1942.
[3] *H. M. El-Badry* and *C. L. Wilson*, Mikrochem. **40**, 141 (1952).
[4] *H. M. El-Badry* and *C. L. Wilson*, Mikrochem. **40**, 218 (1953).
[5] *H. M. El-Badry*, *F. R. M. McDonnell* and *C. L. Wilson*, Analyt. Chim. Acta **4**, 440 (1950).

Microchemistry Laboratory, Chemistry Department,
The Queen's University of Belfast, Northern Ireland.

Chemical Analysis on the Microgram Scale. IV.

Semi-Quantitative Estimation of Vanadium.

By

Hamed M. El-Badry and **Cecil L. Wilson.**

(Received October 20, 1952.)

Preliminary experiments on the placing of certain of the less familiar elements in a non-H_2S scheme of analysis suggested that vanadium would be included with lead, mercurous mercury, silver and tungsten in the second group of elements. Although subsequently a means was found of retaining vanadium in solution until a later group[1], this element was therefore included in the original plan of the investigation to determine suitable precipitating forms for semi-quantitative estimation of the elements of this group[2]. As it would seem inappropriate, following the final non-H_2S grouping, to give the results of the investigation of vanadium with those of the other elements, these are published separately.

The methods used were similar to those applied in the case of the other elements.

Estimation of Vanadium.

Vanadium can be precipitated as lead vanadate from weak acetic acid solution, by adding excess of neutral lead acetate solution. The voluminous orange lead vanadate precipitate always collects in a form quite suitable for the measurement of volume.

Procedure: Fifty millimicrolitres of the stock solution are acidified by adding approximately 10 mλ of 2 *N* acetic acid in a cone. To this acidified solution 60–70 mλ of neutral lead acetate solution (1 part of saturated aqueous solution to 1 part of water) are added, and the whole is agitated, and then centrifuged. The volume of the precipitate is then estimated.

The following figures, arranged in order of increasing magnitude, give the values for the volume of lead vanadate in ten determinations, ex-

pressed as millimicrolitres of precipitate per microgram of vanadium (mλ/γ V).

106	108	110	110	112	116	118	118	124	124

Mean value	115 mλ/γ V
Standard deviation for a single determination	$\pm$ 6 mλ/γ V
Coefficient of variation	5 per cent

The close reproducibility of these results, compared with those obtained for lead, mercurous mercury, silver and tungsten[2], is probably due to the larger volume of the lead vanadate precipitate produced from the same amount of element. These values might have been still better, but the lead vanadate has some tendency to stick to the walls of the cone, so that the surface is not as clearly defined as in the case of the other precipitates. However, there seems to be an indication that a voluminous precipitate is probably very satisfactory for microgram estimation, and this general conclusion would seem to be borne out by the fact that in the results quoted in the previous paper the bulkiest precipitate (lead chromate) showed the lowest coefficient of variation. In consequence, it is possible that organo-metallic complexes would prove satisfactory for this purpose. Work to investigate this possibility is proceeding.

Summary.

The semi-quantitative estimation of microgram amounts of vanadium with a coefficient of variation of 5 per cent is described.

Zusammenfassung.

Die halbquantitative Schätzung von Mikrogramm-Mengen von Vanadium mit einer Schwankungsbreite von 5% wird beschrieben.

Résumé.

On décrit le dosage semi-quantitatif du vanadium en quantités de l'ordre du microgramme avec des écarts de 5%.

References.

[1] *H. M. El-Badry, F. R. M. McDonnell* and *C. L. Wilson*, Analyt. Chim. Acta **4**, 440 (1950).

[2] *H. M. El-Badry* and *C. L. Wilson*, Mikrochem. **40**, 225 (1953).

Experimental Study of the Precision of Weighing.

By

Anne G. Loscalzo* and **A. A. Benedetti-Pichler****.

With 1 Figure.

(Received October 1, 1952.)

In a previous communication[1] it was claimed on theoretical grounds that the variance of the determination of the weight increment should be reduced to one fourth when *Gauß'* transposition weighing is used in place of direct weighing. Such a betterment seemed sufficient reason to warrant an experimental test which, in addition, might give some more insight into the behaviour of precision balances.

The test was carried out with an *Ainsworth* analytical balance, and it was repeated with a *Kuhlmann* microchemical balance, both in good condition. The balances were located in an airconditioned room with the temperature constant at $23 \pm 1°$ C. The microchemical balance stood under a large glass case with a fluorescent lamp close above the top of the case. Thus, the temperature measured on top of the balance case rose from 23 to about 27° C during a working period from morning to noon. The climate in the large case may be classified as corresponding to average balance room conditions.

The objects weighed were four small glass bottles: No. 13, 2.68 g; No. 27, 2.89 g; No. 53, 1.70 g; and No. 73, 1.74 g. Four similar bottles were used for tares in order to exclude all effects of varying conditions in the atmosphere. All bottles were continuously kept in the case of the balance tested.

To eliminate all chance for the intrusion of bias in the determination of weight increments, three consecutive points of reversal were recorded for each weighing, and the computation of the deflections was deferred until all weighings had been completed. Furthermore, the weighings were arranged in such an order that like weighings were separated by a considerable interval of time. Bottle 13 was weighed first on the left-hand pan and then on the right-hand pan. Then followed the same weighings for bottles 27, 53, and 73, whereupon the series was started

* 30–78, 38th Street, Long Island City 3, N. Y.
** Queens College, Flushing, N. Y.

again by beginning with bottle 13. The zero deflection of the unloaded balance and the sensitivity were checked at frequent intervals.

All bottles were weighed 54 times on the analytical balance and 50 times on the microchemical balance. All weighings were corrected for the zero reading, which could be done by simple subtraction of the zero deflection since sensitivities for zero load and sensitivities for maximum loads used showed even in the instance of the microchemical balance no significant difference. The standard deviations were computed for each group of 27 (25) weighings on the left-hand pan and 27 (25) weighings on the right-hand pan.

The same weighings were combined to give 27 (25) transposition weighings for each bottle, from which the estimates of the standard deviation of the transposition weighings were calculated.

Computational errors were excluded by checking the long-hand computations with the use of a calculating machine. Table I lists the variances obtained in weighing the four bottles. Averaging leads to the variances derived from 216 (200) direct weighings and 108 (100) transposition weighings, and the roots of the averages give the corresponding standard deviations.

Table I. Observed Precisions.

Bottle No.	Analytical Balance:				Microchemical Balance:			
	Number of Weighings	Computed Variance of Weighings in 10^{-8} mg^2			Number of Weighings	Computed Variance of Weighings in 10^{-8} mg^2		
		Direct Weighing on		*Gauß* Weighing		Direct Weighing on		*Gauß* Weighing
		left pan	right pan			left pan	right pan	
13	27	88209	84681	32400	25	22500	10609	10816
27	27	84100	67600	12100	25	9604	6241	2025
53	27	136900	102400	25600	25	8836	62500	1156
73	27	96100	136900	36100	25	8464	7921	1024
all four	108	101327	97895	26550	100	12351	21818	3755
left and right	216	99611			200	18084		
standard deviations:		$31.6 \pm 1.55\ \gamma$		$16.3 \pm 1.11\ \gamma$		$13.1 \pm 0.67\ \gamma$		$6.1 \pm 0.44\ \gamma$

The obtained variances for direct weighing and transposition weighing are quite closely in the predicted ratio 4 : 1, and this holds for the microchemical balance as well as for the analytical balance. Naturally, the standard deviations are in the ratio 2 : 1. The relatively large number of observa-

tions permits application of classical statistics so that the relative standard deviations of the standard deviations may be calculated from the equation

$$\sigma_s/\sigma = \pm\sqrt{\frac{1}{2\,(n-1)}}\,.$$

It makes actually little difference whether $n-1$ or the degrees of freedom ($n-8$ and $n-4$, respectively) are used, but using the latter the relative standard deviations of the computed standard deviations are ± 0.049, ± 0.051, ± 0.069, and ± 0.072. Consequently, the com-

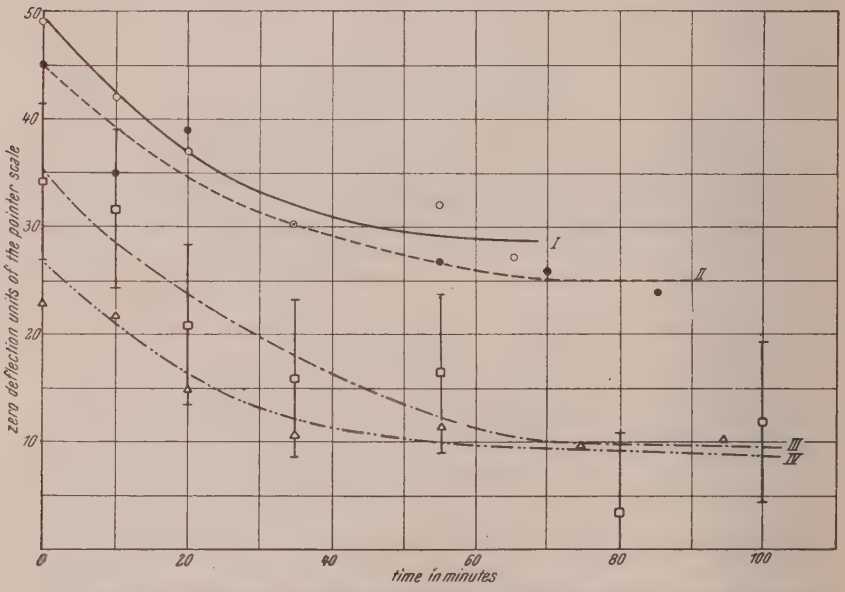


Fig. 1. Drift of Zero Deflection of Microchemical Balance as a Function of the Time the Observer Remains in Front of the Balance.

puted standard deviations of the weighings are uncertain only to the extent of ± 0.144, at the most, and it appears experimentally proven that the precision of weighings is approximately doubled by the use of *Gauß'* method of transposition.

All weighings were performed in periods of 2 to 3 hours during which time the experimenter remained continuously in front of the balance. Since the room temperature was below skin temperature, it seemed desirable to determine the drift of the zero readings of the balances. As to be expected, the zero reading of the analytical balance remained unaffected. In contrast to this behaviour, a definite change of the zero reading was observed with the microchemical balance, in spite of the fact that its precision was only three times better than that of the analy-

tical balance. This behaviour is well known. Since far more precise assay balances, however, are much less affected by temperature changes, one is practically forced to conclude that there must be something wrong in the design of the customary microchemical balances.

The drift of the zero reading shown by the microchemical balance used in this investigation is shown by Fig. 1. All zero readings were calculated as the means of two observations so that their standard deviation may be set equal to $\pm 9\,\gamma$ or ± 7.5 units of the pointer scale as indicated for curve III in Fig. 1. One obtains the impression that the zero reading assumes a constant value when the observer has remained in front of the balance for 60 to 70 minutes during which time the temperature in the balance case rose approximately 2.2° C (22.5° C to 24.8° C). As a rule, the temperature above the balance case was about 2 degrees higher and rose approximately parallel with the temperature measured inside the balance case. It is questionable, however, whether this temperature change can be correlated with the drift of the zero readings. During the observation of the data for curve IV the temperature changed inside the balance case from 24° C to 23.6, 23.6. 23.0, 23.4, 23.6, and 23.8° C. Nevertheless, curve IV seems to show the same general trend as the other curves so that the presence of the operator appears to represent the common decisive factor.

Acknowledgement.

The authors are indebted to Professors *Vincent du Vigneaud* and *Julian R. Rachele* for permission to use their facilities at Cornell University Medical College, New York, N. Y.

Zusammenfassung.

Aus den Ergebnissen von mehr als 200 Wägungen auf einer analytischen Waage von Ainsworth und 200 Wägungen auf einer mikrochemischen Waage von Kuhlmann wird geschlossen, daß die Präzision der *Gauß*schen Doppelwägung jene der direkten Wägung unter Berücksichtigung der Lage des Nullpunktes der Waage um das Doppelte übertrifft.

Die Nullpunktverschiebung der mikrochemischen Waage durch die Gegenwart des Beobachters wird in Fig. 1 als eine Funktion der Verweilzeit dargestellt.

Résumé.

A partir des résultats de plus de 200 pesées sur une balance de précision d'Ainsworth et de 200 pesées sur une microbalance de Kuhlmann, on conclut que la précision de la double pesée de *Gauß* surpasse celle de la pesée directe en égard à la position du zéro de la balance.

Le déplacement du zéro de la balance micro par la présence de l'observateur est représentée par la figure 1 comme fonction du temps de cette présence.

Literature.

[1] *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 153 (1949).

Contribution from the Department of Chemistry, New York University, New York, USA.

A Compact Temperature-Regulated Micro Drying Oven.

By

Remsen Ten Eyck Schenck and **T. S. Ma.**

With 6 Figures.

(Received November 3, 1952.)

Some sort of drying apparatus is essential in the microchemical laboratory. It is needed both for the removal of solvents from a preparation before determination of the melting point[1] and for drying samples prior to microanalysis[2]. A vacuum desiccator will suffice, but a much more rapid and convenient device is the glass drying "pistol", also known as the "Abderhalden drying apparatus". The latter name probably originated in the fact that the description first appeared in *Abderhalden*'s Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden, though it was described by *Brahm* and *Wetzel*[3] and not by *Abderhalden* himself. This apparatus has been used by the chemist for over forty years without much modification; it consists of an inner glass tube, in which the sample is placed, surrounded by an outer jacket containing the vapor of a boiling liquid. The jacket is provided with a reflux condenser to return the liquid to the boiling flask. Control over the drying temperature is obtained by selection of a liquid of appropriate boiling point. Provided that only substances quite stable to long boiling are used, good constancy of temperature is thus very simply attained; in the original design, however, the temperature of the sample may not be the same as that of the vapor, because the condensate drips back onto the inner tube. This uncertainty can be avoided, at the expense of considerably increased fragility, by setting the reflux condenser off-center and providing a separate, external duct to return it to the boiling flask. The greatest drawbacks to the method are the nuisance of having to maintain a long series of liquids covering a range of boiling points, the occasional difficulty of finding a substance boiling at exactly the desired tempera-

ture, and the tedium of repeatedly changing liquids (with the attendant necessity of cleaning the whole apparatus) when it is desired to examine the progress of drying by raising the temperature at close intervals, as in the determination of water of crystallization.

Proposals designed to eliminate these drawbacks have been made by *Blank*[4], who describes a drying tube inserted in a metal block heated by a micro-burner, and by *Ingram*[5], who recommends a drying oven consisting of a cylindrical aluminum block containing a hole fitted with a lid. The block is mounted vertically on a supporting stand carrying a micro-burner. Unfortunately, in overcoming the deficiencies of the *Abderhalden* pistol, both these suggestions also sacrifice its reliability as to temperature, as it is notoriously impossible to maintain a constant temperature over any appreciable length of time by means of a free gas flame.

The present authors have succeeded in combining the desirable features of both the *Abderhalden* and the *Blank-Ingram* designs by inserting the glass pistol into a metal block which is heated electrically. Temperature control may be either automatic (thermostatic) or manual, by means of an external device such as a Variac or rheostat. The resulting apparatus is compact, 10 × 13 cm, 13 cm high exclusive of thermometer, and sturdy enough to be readily portable.

The mechanical details given in Fig. 1 are adequate to permit duplication in any machine shop. Dimensions shown are by no means critical; they may well have to be modified in some cases, as the glass pistols vary considerably in both length and diameter. It is necessary only that the depth of the main cavity be sufficient to accomodate the pistol for its full length and that the diameter be a snug fit without being so tight as to crack the glass by unequal expansion on heating. The oven illustrated was turned from a length of $2^1/_4$-inch round 24-ST aluminum bar. In addition to the holes for pistol, thermometer, thermistor and mounting screws, there was provided a circumferential cavity nearly the full length to accept the resistance winding. This was then slotted parallel to the axis so that both leads of a single-layer winding could emerge together without introducing any irregularity in the surface.

This spool was wound with 24 B & S asbestos-covered Chromel A wire, by laying the starting end in the slot and winding from the end containing the thermometer well toward the narrow flange. With the turns packed closely together, approximately 40 ft. of wire was required to fill the 4-inch space. The cold resistance was thus about 65 ohms, and the dissipation when connected directly across the 115 v line almost exactly 200 watts. This figure may be increased to 300 watts by use of a Variac, which steps up the line to a top of 135 v, but since even 200 watts gives an equilibrium temperature well above 200° C, it is unlikely that the additional power would ever be required.

It is possible to use the oven with no further treatment; some additional thermal insulation is, however, desirable. It is recommended that the winding be first covered with a thin layer of alundum cement, just enough to render the wire invisible. This is then painted with a thin coat of asbestos-and-sodium silicate furnace cement, thinned with water to permit brushing. The combination is necessary because the silicate will eventually destroy the winding if permitted to come in contact with it, while the alundum cement does not mature below 500° C and

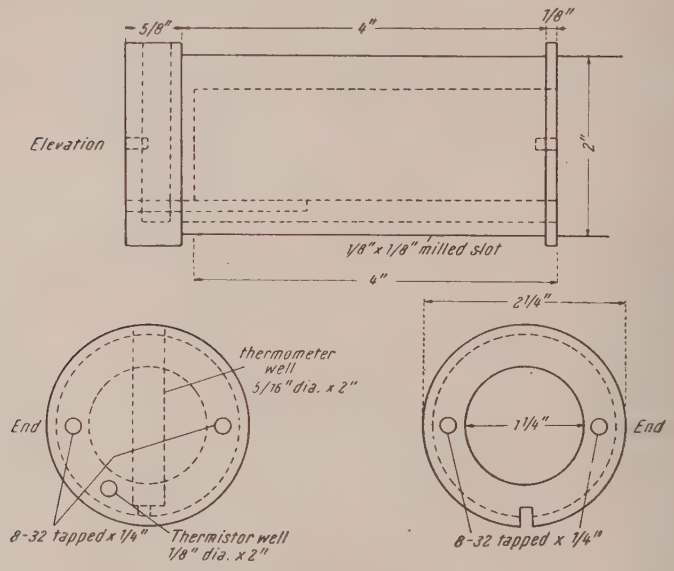


Fig. 1. Micro Oven. Construction Details.

thus requires an outer layer of silicate as a binder. A strip of soft asbestos paper, 4 inches wide and long enough to wrap completely around the cement-covered winding with about $^1/_2$ inch of overlap, is then applied wet, smoothed into a snug fit, and painted all over with plain sodium silicate solution. After drying for 5–6 hours in an oven at about 100° C the jacket will be found to be bound together into a rock-hard, coherent unit which not only anchors the ends of the winding solidly but possesses very good resistance to reasonable mechanical shock.

In order to support the pistol and allow freedom to its vacuum connection, as well as to minimize heat losses by conduction, the oven is supported several inches above its base by a forked bracket at each end. The brackets should ideally be made of some non-conductive material such as transite (hard asbestos board), but this type of substance is

extremely brittle and must be handled with great care. It has been found practical to substitute $^1/_8$-inch sheet aluminum; the thermal losses therefrom, while appreciable, are not excessive. The base is most conveniently a small metal box or radio chassis, about 10 × 13 cm, perhaps 5 cm high. On it are mounted a pair of binding posts, to which the free ends of the heater winding are fastened and which provide a ready means of connecting an external controlling device.

While very good constancy and control of temperature is obtainable merely by regulating the current through the resistance winding with a Variac or rheostat, such a simple arrangement has several drawbacks. The greatest of these is the fact that equilibrium is approached asymptotically, and constant temperature is thus attained only after an inconvenient length of time. A calibration curve must be empirically plotted, or rather a set of curves, as the terminal temperature is determined not only by the voltage input (which will vary, for a given dial setting, both with the individual controlling instrument and with fluctuations in the supply) but by the room temperature as well. Finally, Variacs are heavy, bulky and expensive, and rheostats waste large amounts of power. It is greatly preferable to employ some kind of automatic device to control the temperature.

Fortunately, the means for accomplishing this now exist in the form of the thermistor, a semi-conductor developed during the war. Thermistors are obtainable which require only a fraction of the space occupied by a thermometer, which have very high cold resistance, and which have negative temperature coefficients of resistance up to 5% per degree C, giving good sensitivity when working directly into a thyratron grid without amplification. A control circuit using such a thermistor (Western Electric Type 14 A) is shown in schematic form in Fig. 2.

Briefly, this instrument operates as follows: The thermistor and the several potentiometers and fixed resistors form a voltage divider across the transformer secondary. The thyratron cathode is returned to a tap 6.3 v RMS (8.9 v peak) from the "negative" end, and the grid to the more "positive" terminal of the thermistor. On the half-cycle in which the plate is negative with respect to the cathode no conduction can of course occur (it is necessary to operate thus on unrectified AC in order that the tube shall extinguish each cycle and the grid retain control. The filter condenser merely serves to eliminate relay chatter), but when the plate swings positive the question of tube conduction is determined by the potential of the grid relative to the cathode. As long as this is more negative than the critical value (about — 2 v here) no current passes; however, on any half-cycle whose peak does not reach this value on the grid, the tube fires and continues to conduct for the remainder of the half-cycle. As the oven cools below the equilibrium temperature the

resistance of the thermistor increases and the grid potential becomes more positive; the thyratron conducts, closing the relay and applying power to the heater. Rising temperature reduces thermistor resistance, increasing the negative grid bias until the thyratron cuts off and lets the relay drop out again. The equilibrium temperature is established by varying the other resistances in the divider in the inverse sense, or by varying the voltage applied across the divider.

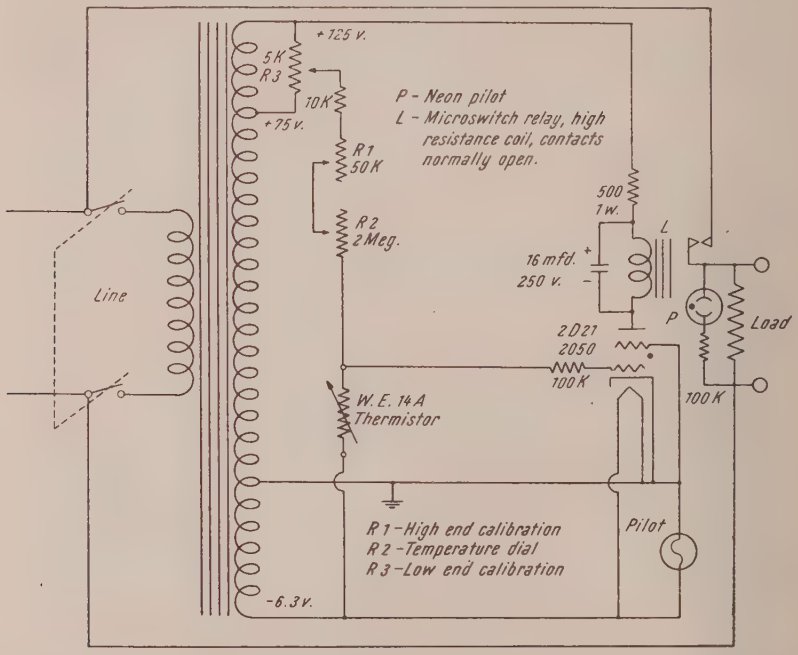


Fig. 2. Electronic Control Circuit.

To calibrate the instrument, potentiometer R 1 is set near the middle of its range, R 2 at its maximum resistance, and R 3 is adjusted to maintain a temperature of 25° C in the oven. As the resistance in R 2 is decreased, the resistance in the thermistor to give cut-off bias decreases proportionately, and therefore the temperature of equilibrium increases. The rotation of R 2 may thus conveniently be marked off directly in equilibrium temperature. To spread the temperature range as evenly as possible over the dial it is necessary to use a "log taper" potentiometer for R 2; a "left-hand" taper for temperature increasing with clockwise rotation. The more easily obtainable "right-hand log taper" may also be used if the dial is laid out to read temperature increasing counter-

clockwise. Before calibrating the upper half of the dial it is necessary to fix its upper limit. This is done by setting R 2 at minimum resistance and adjusting R 1 to make the temperature hold at the desired point. With the constants given, a top of 150° C is appropriate. Higher temperatures are possible, up to 300° C (the maximum the thermistor will tolerate), but to achieve this without crowding the temperature dial to the point where accuracy of setting is impossible it is necessary to modify

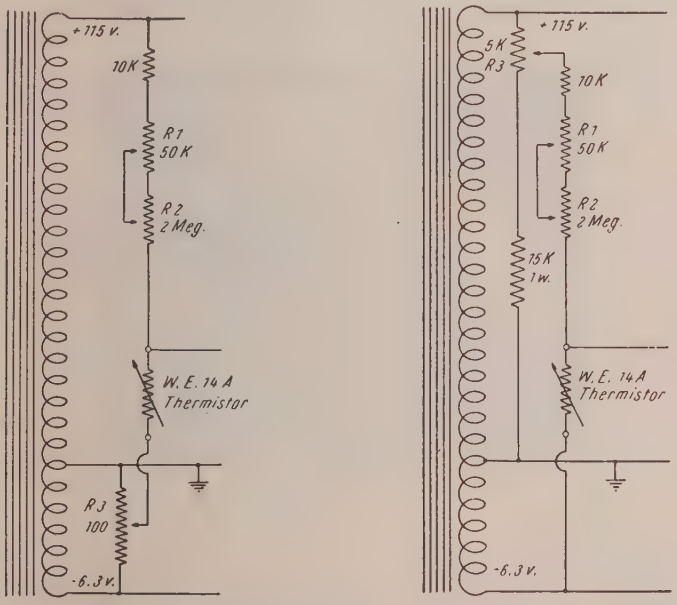


Fig. 3 and 4. Electronic Control Circuit. Alternate Wiring.

the circuit in several respects[6]. The order of adjustment specified is demanded by the fact that R 3 affects both lower and upper limits, while R 1 influences the upper only. Neither R 1 nor R 3 will require further adjustment unless the thermistor or the tube is replaced.

It is recommended that a relay of either the mercury switch or the microswitch type be used. The load current which must be interrupted amounts to several amperes, which implies serious danger of arcing and sticking of simple contact points of the weight obtainable in plate-circuit relays. A mercury switch will handle heavier loads, while a microswitch has the advantage of not requiring levelling. The capacitor and series resistor shown are correct for a coil resistance of 1000 to 1500 ohms; if a higher value is chosen, one or both may require to be altered. The

neon pilot is not indispensable, but is very convenient for continuously indicating the operation of the circuit.

If a transformer tapped at 75 and 125 volts as shown is not obtainable, several alternatives are possible. Fig. 3 employs a second voltage divider across the full secondary to provide the necessary variation in positive potential. The additional power dissipation is negligible. Fig. 4 rearranges the circuit to place the adjustment in the negative supply, which cuts down somewhat on the sensitivity and increases the temperature fluctuations correspondingly. Both of these require only a low-

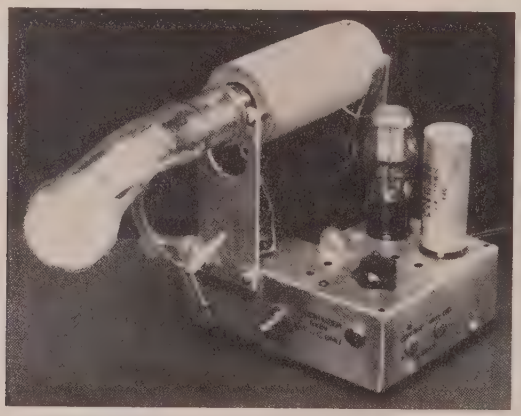


Fig. 5. Micro Drying Oven. Complete Assembly.

power isolation transformer and a 1-ampere filament transformer. In fact, if precautions are taken to insulate the circuit from all exposed metal parts, the isolation transformer may be dispensed with and the voltage dividers bridged directly across the line.

The thermistor, a 2 × 50 mm glass "match-stick" with two leads sealed into one end, is accomodated in a well in the wall of the oven as indicated in Fig. 1; a wad of soft asbestos fiber tamped on top holds it in place. It is best to bring the leads to a second pair of binding posts mounted on the base, as they are too fragile to endure repeated handling. The control circuit may be assembled on a second small box or chassis, or both controller and oven may be mounted on a somewhat larger base to form a single compact unit. Fig. 5 shows the prototype apparatus, built on a standard radio chassis, 12.5 × 17.5 × 5 cm. Once the temperature dial has been calibrated, it is necessary only to set the instrument to the desired temperature and switch on the power. Since full voltage is applied in an on-off manner rather than by proportional regulation,

equilibrium is approached directly, not asymptotically, and is reached within 5 minutes. The temperature varies about 2° above and below the nominal value over the lower part of the range, and not more than ± 1° over the upper part.

Interchangeable pistols of three types are maintained for use in this oven. The great majority of samples are dried in the *Unterzaucher* tube[7], which accomodates either the standard $^1/_2$-dram storage vial or, for hygroscopic materials, a "weighing piggy". Where the sample is suspected of retaining appreciable amounts of solvent, whether by adsorption, by occlusion, or by solvation, the unmodified *Abderhalden* tube is substituted. The sample is spread out in a thin layer in a long porcelain or glass boat, the apparatus is evacuated at room temperature and the temperature is raised very slowly until the boiling point of the solvent is reached or exceeded. Since it is impossible for the oven to exceed the temperature set for it, there is no danger of melting the crystals by overheating them before the solvent has been removed. For the occasional sample which must be dried in a special atmosphere, there is available the *Benedetti-Pichler* apparatus[8] (slightly modified), in which the desiccant bulb is replaced by a stopper carrying inlet and outlet tubes for inert gas. This is illustrated in Fig. 6.

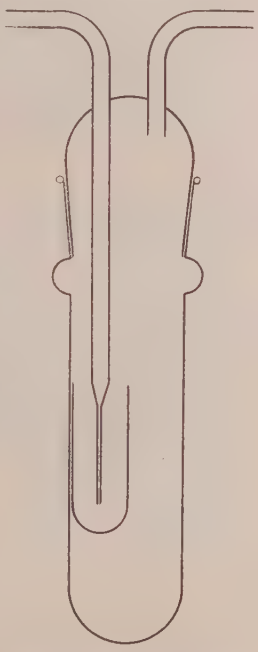


Fig. 6. Drying Tube. Modified *Benedetti-Pichler* Design.

Summary.

An electrically-heated micro drying oven is described. It consists of a hollow aluminum cylinder, heated by an external winding of resistance wire, and bored to accomodate a glass drying tube such as an *Abderhalden* pistol. The temperature may be regulated by an external Variac or rheostat, or by an electronic thermostat. With the latter type of control, temperatures between 25° and 300° C can be maintained with a precision of ± 2° C or better. Equilibrium is reached within about 5 minutes.

Zusammenfassung.

Ein elektrisch geheizter Trockenblock wird beschrieben. Er besteht aus einer außen mit Heizdraht umwundenen Aluminiumspule, deren Bohrung so bemessen ist, daß sie sich zur Aufnahme eines Trockenrohres oder einer *Abderhalden*schen Trockenpistole eignet. Die Temperatur kann durch einen

Widerstand, durch einen regulierbaren Transformator (Variac, Powerstat) oder durch einen elektronisch regulierten Thermostat eingestellt werden. Mit der letzterwähnten Art von Kontrolle können Temperaturen zwischen 25 und 300° C mit einer Präzision von ± 2° C oder besser eingehalten werden, wobei innerhalb von ungefähr 5 Minuten Temperaturkonstanz erreicht wird.

Résumé.

On décrit une micro-étuve chauffée électriquement. Elle consiste en un cylindre creux d'aluminium chauffé par une résistance externe et portant un trou pour loger un tube de verre desséchant comme dans le pistolet d'*Abderhalden*. La température peut être réglée par un Variac ou rhéostat extérieur ou par un thermostat électronique. Avec ce dernier type de contrôle, les températures entre 25 et 300° C peuvent être maintenues avec une précision de ± 2° C ou même mieux. L'équilibre est atteint en moins de 5 minutes.

Literature.

[1] *H. Lieb* and *W. Schöniger*, Anleitung zur Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen, Springer-Verlag Wien. 1950. p. 6.

[2] *Al Steyermark*, Quantitative Organic Microanalysis, The Blakiston Co., Philadelphia. 1951. p. 39.

[3] *C. Brahm* and *J. Wetzel*, Abderhaldens Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden, Vol. 1, Urban & Schwarzenberg, Berlin. 1910. p. 296.

[4] *E. W. Blank*, J. Chem. Education **12**, 43 (1935).

[5] *G. Ingram*, Metallurgia **38**, 239 (1948).

[6] *T. S. Ma* and *R. T. E. Schenck*, Mikrochem. **40**, 245 (1953).

[7] *J. Unterzaucher*, Mikrochem. **18**, 315 (1935).

[8] *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem., Pregl-Festschrift 6 (1929).

Contribution from the Department of Chemistry, New York University, New York, USA.

A Universal Micro Heating Stage.

By

T. S. Ma and Remsen Ten Eyck Schenck.

With 7 Figures.

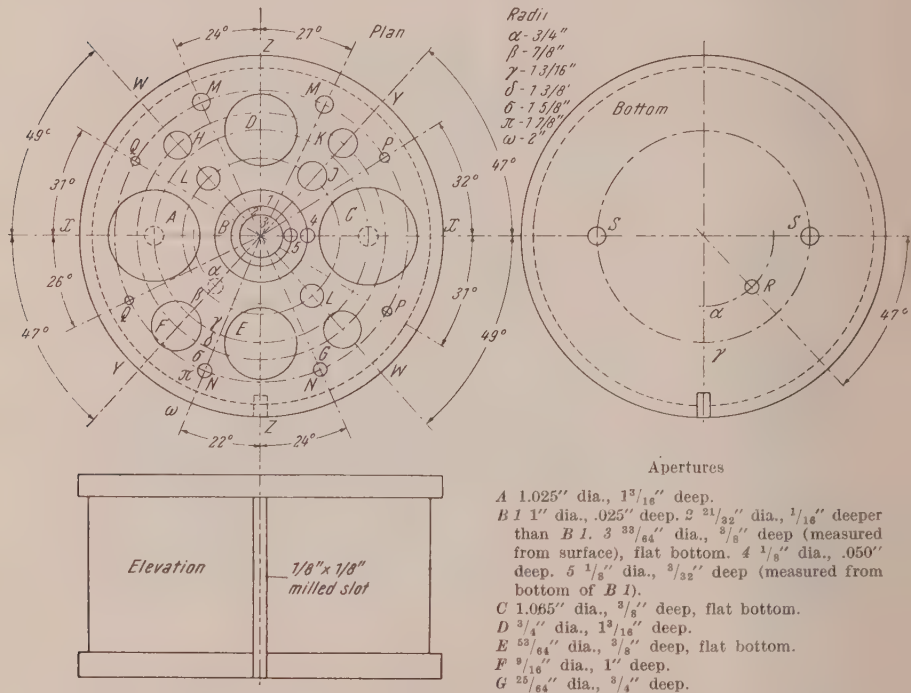
(Received November 3, 1952.)

The microchemist usually works in a restricted space, with instruments and reagents within easy reach. It is at the same time important. as *Chamot* and *Mason* have stressed in discussing chemical microscopy[1]. that his position be comfortable and unstrained. A prime requirement in the design of microchemical equipment, therefore, is that it be compact. versatile, and convenient to use. This communication describes a universal micro heating stage which meets these criteria. It serves as a stand for many types of micro glass and porcelain ware, and in addition will maintain, within narrow limits, any temperature between 25° and 300° C.

Heating in microchemical operations may be effected by a free flame. an air bath, an oil bath, or a metal block. The newer microchemistry laboratory manuals[2,3,4] seem to favor the free flame of a micro burner or the oil bath. This choice is difficult to understand, since the drawbacks of each are so pronounced. A gas flame needs constant attention and complete freedom from air currents to provide even approximately constant temperature. Oil deteriorates with age, and fumes at high temperature; a drop of water causes spattering; creeping and spillage call for frequent clean-up operations. Even more important, micro apparatus such as distilling flasks and capillaries must be scrupulously freed from oil after each use if contamination is to be avoided, and this is a tedious process. These considerations have led *Morton*[5] to prefer the aluminum block.

Emich has used the metal block for heating capillary tubes[6], *Soltys* has described a microsublimation tube heated in a block[7], *Fuhrmann*

has devised blocks of special shapes for particular purposes[8], and *Malissa* has designed a block with multiple holes for gas analysis vessels[9]. The suggestion of *Johns* that such blocks be heated on an electric hot plate[10] is a step forward, as much better temperature control is obtainable in this way than by the earlier method of gas heating. To keep a separate



Apertures

A 1.025″ dia., $1^{3}/_{16}$″ deep.
B 1 1″ dia., .025″ deep. *2* $^{21}/_{32}$″ dia., $^{1}/_{16}$″ deeper than *B 1*. *3* $^{33}/_{64}$″ dia., $^{3}/_{8}$″ deep (measured from surface), flat bottom. *4* $^{1}/_{8}$″ dia., .050″ deep. *5* $^{1}/_{8}$″ dia., $^{3}/_{32}$″ deep (measured from bottom of *B 1*).
C 1.065″ dia., $^{3}/_{8}$″ deep, flat bottom.
D $^{3}/_{4}$″ dia., $1^{3}/_{16}$″ deep.
E $^{53}/_{64}$″ dia., $^{3}/_{8}$″ deep, flat bottom.
F $^{9}/_{16}$″ dia., 1″ deep.
G $^{25}/_{64}$″ dia., $^{3}/_{4}$″ deep.
H $^{5}/_{16}$″ dia., $1^{3}/_{8}$″ deep.
J $^{5}/_{16}$″ dia., 2″ deep.
K $^{1}/_{4}$″ dia., $1^{3}/_{16}$″ deep.
L # 2 drill, 1″ deep.
M # 19 drill, 1″ deep.
N # 31 drill, 1″ deep.
P # 43 drill, 1″ deep.
Q # 50 drill, 1″ deep.
R $^{1}/_{8}$″ dia., 2″ deep.
S 8—32 tapped, $^{1}/_{2}$″ deep.

Fig. 1. Universal Micro Heating Stage. Construction Details.

block for each different type of glassware is, however, cumbersome and unnecessary.

The present authors have constructed an aluminum heating block designed to be universal in its applicability. It combines all the best features of previously described similar devices, and includes a few new ones as well. Thus, it is drilled for all the commonly used micro ware, has its own electrical heating unit built in, and can even be provided with an automatic temperature control. Procedures to which it lends itself include micro inorganic analysis according to *Benedetti-Pichler*[11],

micro organic analysis according to *Schneider*[3], semi-micro preparations according to *Cheronis* and *Entrikin*[2] and *Lieb* and *Schöniger*[4], the fusion tests of *Kofler*[12], and many others.

The block proper is turned from a $2^1/_4$-inch length of 4-inch diameter 24-ST aluminum rod. Complete specifications are given in Figs. 1 and 2. Machining operations fall into three general categories: turning and

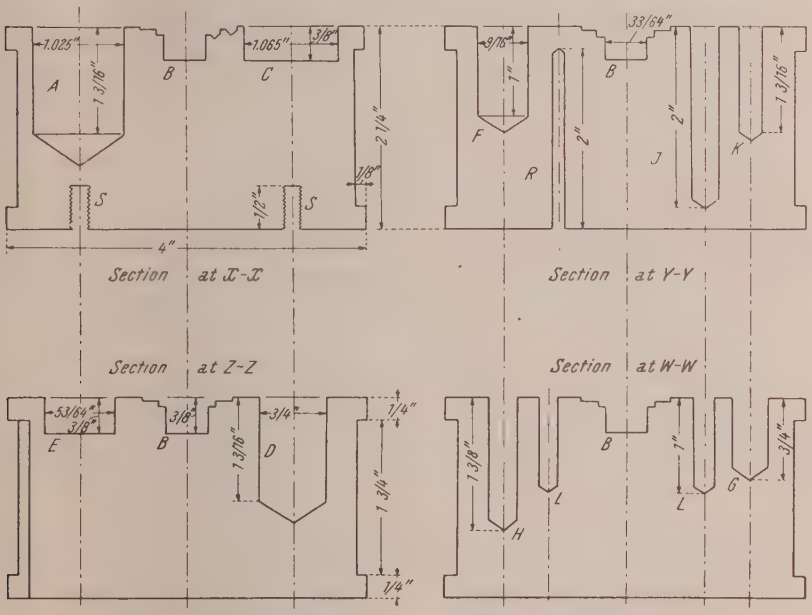


Fig. 2. Universal Micro Heating Stage. Construction Details, Cross Sections.

slotting the spool to accomodate the resistance winding, drilling the bottom for mounting screws and thermistor, and drilling the top surface for various sizes of micro glassware. This last class has two subdivisions: simple conical-bottom drill holes and shallow flat-bottom wells. The purposes of the several sizes in each subdivision are listed in Tables 1 and 2. Dimensions specified for these surface apertures have been chosen to allow for the normal variation in size of glass and porcelain vessels: the transfer of heat to the occasional tube or beaker which is badly undersize is facilitated by winding aluminum foil around the bottom to improve the fit. Similarly, when a round-bottomed vessel is used in a flat-bottomed well, or a flat-bottomed vessel in a round-bottomed hole, the thermal characteristics are improved by filling in the air spaces under the apparatus with a pinch of aluminum or copper powder or fine chips.

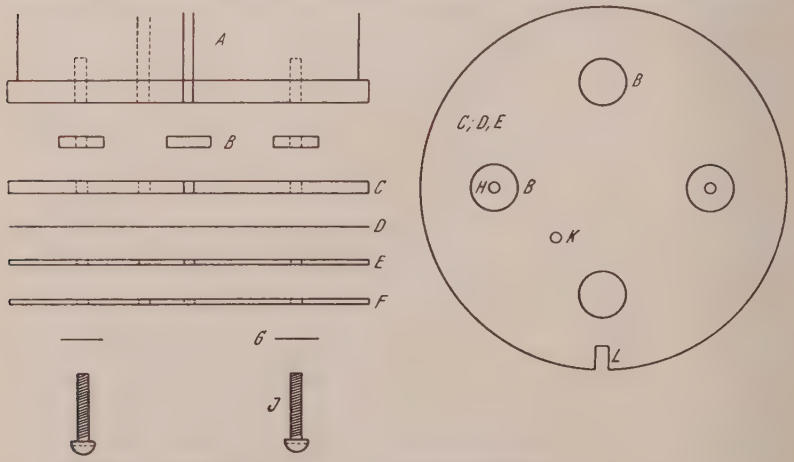
Table 1. Some Uses of Conical-Bottom Holes.

Hole (see Figs. 1 and 2)	Diameter in mm	Apparatus Accomodated
A	26	8-inch test tube, extractor, sublimator, etc., for semi-micro preparations[2,4].
D	20	6-inch test tube, 10-ml centrifuge cone, distillation apparatus[2], etc.
F	14	4-inch test tube for micro preparations[10].
G	10	3-inch test tube for micro preparations.
H, J	8	2-ml centrifuge cone for micro analysis[11], gas reaction vessel[14], thermometer, etc.
K, L	6	Micro-cone for micro analysis[11].
M, N, P, Q	1.5–4	Capillary tubes.

Table 2. Some Uses of Flat-Bottom Shallow Wells.

Well (see Figs. 1 and 2)	Diameter in mm	Apparatus Accomodated
B	13	1-ml beaker, micro crucible[1], 25-mm watch glass, etc.
C	27	Filter beaker[15], porcelain evaporating dish, 5-ml round-bottom flask, etc.
E	21	5-ml beaker, etc.

Mounting the stage is purely a matter of convenience. It would function quite adequately simply fastened to a sheet of hard asbestos



A Base of block.
B 1/2-inch discs, 1/8-inch transite.
C 4-inch disc, 1/8-inch transite.
D 4-inch disc, .002-inch aluminum foil.
E 4-inch disc, asbestos paper.
F Metal top of mount.
G Mica washers.
H # 9 drill.
J 8—32 × 3/4-inch machine screws.
K 1/8-drill for thermistor.
L Slot for leads to resistance winding.

Fig. 3. Universal Micro Heating Stage. Insulating Mount.

board; it has been found desirable, however, to use a metal box, both for its strength and to permit bringing the ends of the resistance winding (and the thermistor leads, if used) to binding posts. In mounting, the greatest problem is holding the heat losses to the base to a reasonable figure. The barest minimum of insulation required to prevent the base from becoming too hot to touch is an air space, a layer of asbestos board,

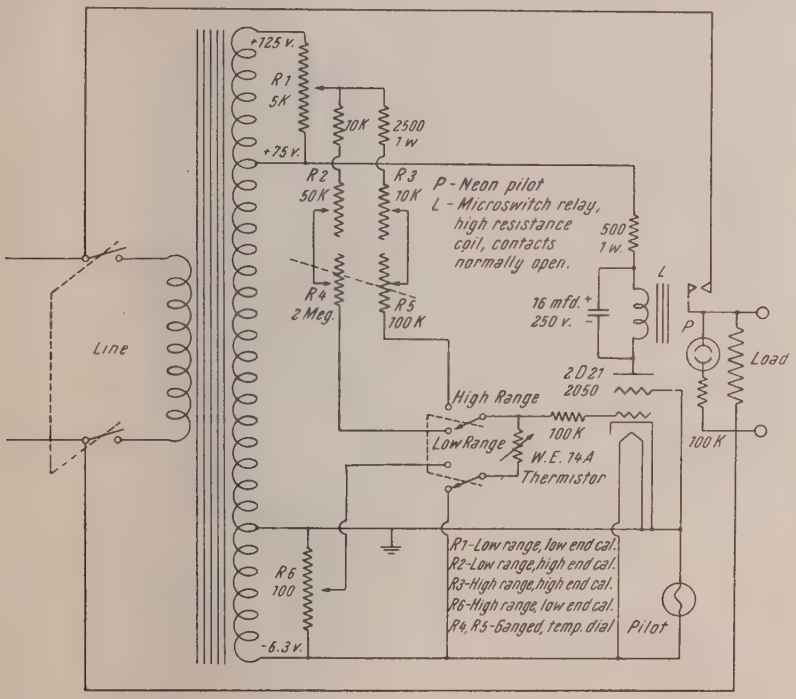


Fig. 4. Dual-Range Electronic Control Circuit.

an aluminum foil reflector, and a second layer of asbestos, with mica washers under the heads of the hold-down screws. The assembly is diagrammed in Fig. 3.

The resistance winding, of 22 B & S asbestos-covered Chromel A, is applied and cemented in place in the manner previously described for a somewhat similar device[13]. Approximately 35 feet is required to fill the winding space with a single tightly-packed layer; the resistance is thus about 35 ohms and the dissipation, connected across the 115-volt line, close to 400 watts. The temperature may be controlled as we have outlined earlier: by a Variac or rheostat, or automatically through an

electronic thermostat. The stage, however, calls for maximum temperatures considerably higher than are apt to be needed in a simple drying apparatus. It would be possible, of course, to obtain a temperature range even as great as 25–300° C with the circuit we have already presented, but only at the expense of crowding the dial to the point where the setting would become no more than an approximation to the actual equilibrium temperature. It has been found greatly preferable to divide

Fig. 5. Universal Micro Heating Stage. Simple Mounting with Variac Control.

the temperature range into a lower and an upper half, selected by a switch. This is accomplished by combining both the alternatives for calibration into a single circuit, as illustrated in the schematic of Fig. 4. Controlling potentiometers R 4 and R 5 have been ganged to allow for a single temperature dial with a double scale. There is no change in the procedure for calibrating, each range being independent and separately adjustable. Using this controller, any temperature up to 300° C is reached within 5 minutes from a cold start, and is maintained thereafter within $\pm$ 2° C without further attention. A convenient arrangement is to adjust the lower scale to cover from 25 to 150° C and the upper from 150 to 275° C. This gives about the greatest spread possible without danger of damaging the thermistor by exceeding its maximum temperature of 300° C.

The stage alone may suitably be mounted on a standard steel "utility box", 10 × 10 cm, 5 cm high, with the control circuit, if used, as a separate unit, or stage and control circuit may be assembled together on a somewhat larger base, such as a 17.5 × × 17.5 × 5 cm radio chassis. The former style is illustrated in Fig. 5, with a Variac for control, and the latter in Fig. 6. A combination mount has the advantage of maximum compactness and neatness; it should always be provided with a pair of binding posts connected across the heater winding, as automatic control is not suitable for determination of melting points as outlined below. Separate mounts are recommended for student use, as they are sturdier and more readily repaired. They are also advisable where there is any danger of spillage of reagents or solvents, as by boiling over or breakage of apparatus in the block, since the components of the control circuit are much less resistant to such abuse than the stage itself. A further advantage of a separate control circuit is that it may be used with multiple slave devices, so long as all contain similar thermistors.

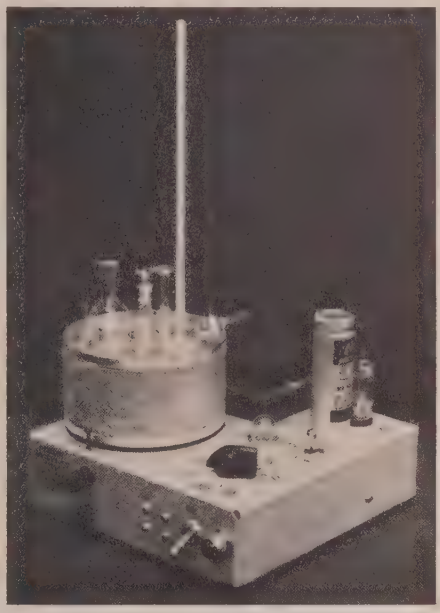


Fig. 6. Universal Micro Heating Stage. Combination Mounting with Automatic Electronic Control.

Concentric with the well in the center of the stage are two shallow, circular depressions for use in fusion tests and the measurement of melting points. In this application the well (A in Figs. 1 and 2) is first plugged with a close-fitting aluminum cylinder to eliminate dead air space. Details of this plug are shown in Fig. 7; the two small holes on top allow it to be removed with a pair of

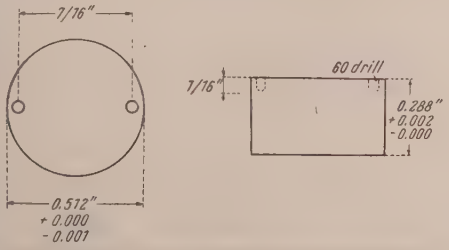


Fig. 7. Accessory Plug for Melting Point Determination.

fine-tip forceps. The depression of smaller diameter accomodates a 15-mm ($^5/_8$-inch) round microscope cover glass, on which the sample is placed. This is then covered with a second cover slip, or with a glass disc of somewhat greater thickness, having a diameter of 25 mm (1 inch). Temperature control for this purpose is always obtained from a Variac or rheostat, and never from the automatic thermostat, since it is desired to raise the temperature slowly and evenly rather than to raise it rapidly and then hold it constant. It should be borne in mind that a stage which contains a thermistor for use with automatic control may not be heated above 300° C *under any circumstances*, even if the thermostat is not being used at the time, as the semiconductive element is destroyed by higher temperatures. In the absence of a thermistor, the stage may be used right up to the melting point of aluminum. The small drill holes which intersect the peripheries of the two shallow depressions permit the cover slips to be removed with fine-tip forceps.

Summary.

There is described an electrically-heated, circular aluminum block which serves as stand and heating stage for many types of microchemical glass and porcelain ware. It is readily adaptable to automatic temperature control and is generally applicable in micro and semi-micro preparations and analyses.

Zusammenfassung.

Ein elektrisch geheizter, zylindrischer Aluminiumblock wird beschrieben, der sich zum Abstellen und als Universalheizblock für eine große Zahl verschiedener Apparate aus Glas und Porzellan eignet. Automatische Temperaturkontrolle kann leicht angebracht werden. Der Block ist zur allgemeinen Verwendung bei mikro- oder semimikroanalytischen und -präparativen Arbeiten bestimmt.

Résumé.

On décrit un bloc circulaire d'aluminium chauffé électriquement qui sert de support et de moyen de chauffage pour différents objets microchimiques de verre ou de porcelaine. Il est rapidement adaptable au contrôle automatique de température et, en général, applicable dans les préparations et analyses micro et semimicro.

Literature.

[1] *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*, Handbook of Chemical Microscopy, 2nd ed., J. Wiley and Sons, New York. 1938.

[2] *N. D. Cheronis* and *J. B. Entrikin*, Semi-Micro Qualitative Organic Analysis, T. Y. Crowell, New York. 1947.

[3] *F. Schneider*, Qualitative Organic Microanalysis, J. Wiley and Sons, New York. 1946.

[4] *H. Lieb* and *W. Schöniger*, Anleitung zur Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen, Springer-Verlag Wien. 1950.

[5] *A. A. Morton*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Ed. **11**, 592 (1939).

[6] *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie, 2nd ed., Bergmann, München. 1926.

[7] *A. Soltys*, Mikrochem., Emich-Festschrift 275 (1930).

[8] *F. Fuhrmann*, Mikrochem. **23**, 167 (1937).

[9] *H. Malissa*, Mikrochem. **38**, 216 (1951).

[10] *I. B. Johns*, Laboratory Manual of Microchemistry, Burgess Publishing Co., Minneapolis. 1942.

[11] *A. A. Benedetti-Pichler*, Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis, J. Wiley and Sons, New York. 1942.

[12] *L. Kofler* and *A. Kofler*, Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische, Wagner, Innsbruck. 1948.

[13] *R. T. E. Schenck* and *T. S. Ma*, Mikrochem. **40**, 236 (1953).

[14] *F. Feigl*, Qualitative Analysis by Spot Tests, 3rd ed., Elsevier, Amsterdam. 1946.

[15] *F. Hecht* and *J. Donau*, Anorganische Mikrogewichtsanalyse, Springer-Verlag Wien. 1940.

Contribution from the National Chemical Laboratory of India, Poona-8, India.

Microdetermination of Chlorine and Bromine in Organic Substances.

By

D. Subba Rao and **G. D. Shah.**

With 1 Figure.

(Received October 22, 1952.)

The dichromate method of *Zacherl* and *Krainick*[1] for the microdetermination of chlorine and bromine in organic compounds is based upon the wet macrocombustion method of *Baubigny* and *Chavanne*[2] and its subsequent modifications[3, 4, 5, 6, 7]. Substances which contain nitrogen or sulfur as additional elements, however, as well as volatile substances cannot be successfully analyzed by this method[8].

As the method of *Zacherl* and *Krainick* happens to be one of quickest procedures for the determination of halogen and since a considerable number of substances containing nitrogen and sulfur have to be analyzed for chlorine and bromine, the investigation of the possibility of extending the range of applicability was thought worth while.

It has been reported[9] that a saturated solution of potassium dichromate in concentrated sulfuric acid can be successfully used in place of lead dioxide as an absorbent for the oxides of nitrogen and sulfur in the determination of carbon and hydrogen. This led us to modify the apparatus of *Zacherl* and *Krainick* by introducing two washers filled with such a dichromate solution. They are inserted between the reaction flask and the absorption buret to trap the interfering oxides before they can reach the alkali in the buret.

It has been claimed[10] that satisfactory results for chlorine and bromine can be obtained with substances containing nitrogen if the reaction is carried ont in an absolutely anhydrous medium. The presented modification renders this unnecessary.

The apparatus is shown in Fig. 1. The washers are about 5 cm long and have a diameter of 1.2 cm at the widest part.

Performance of Determination.

The accurately weighed substance is placed into the dry reaction flask and about 0.5 g of the dichromate mixture consisting of equal parts of potassium dichromate and silver dichromate is added. The reaction flask is attached to the apparatus with the use of a few drops of concentrated sulfuric acid for lubricant. About 2 ml of a saturated solution of potassium dichromate in concentrated sulfuric acid is introduced into each of the two washers which are then closed with their ground-in stoppers. Eight milliliters of 0.01 N sodium hydroxide solution are introduced into the absorption buret from a microburet, and 1 ml of 30% hydrogen peroxide is added. The stopcock of the dropping funnel is lubricated with a few drops of concentrated sulfuric acid and turned to the closed position. Two milliliters of concentrated sulfuric acid are placed into the dropping funnel which is then closed by connecting it to the oxygen tank. The oxygen is turned on with the flow regulated to 5 ml per minute, and the stopcock is gradually opened to force the sulfuric acid slowly down from the funnel into the reaction flask.

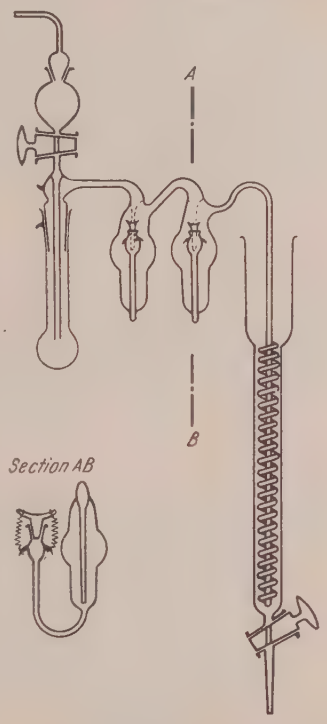


Fig. 1.

After the initial reaction has subsided, the mixture is heated for 45 minutes at 115° to 125° C by means of an oil bath. The absorption liquid is then drained into a well-steamed *Erlenmeyer* flask, and the absorption buret is carefully rinsed with three portions of a few milliliters of distilled water. The rinses are combined with the original absorbant. The latter is treated with a trace of methyl red and then titrated with 0.01 N acid to a distinct red. After boiling to expel carbon dioxide, the solution is treated with some more indicator and backtitrated with 0.01 N sodium hydroxide to a canary yellow color.

The efficiency of the proposed modification may be judged by the results given in Tables I to III.

Table I. Chlorine Determinations in Compounds Containing Nitrogen.

No.	Substance	Per Cent Chlorine	
		Observed	Computed
1	2-chloro-5-nitrobenzoic acid	17.63	17.61
2	2-chloro-3,5-dinitrobenzoic acid	14.20	14.40
3	unknown X	12.10	12.36*
4	3,9-dichloro-7-methoxyacridine	25.28	25.54
5	2,4-dinitrochlorobenzene	17.41	17.57
6	2,5-dichloroaniline	43.63	43.82
7	*o*-chloroaniline	27.60	27.84
8	*m*-chloroaniline	27.71	27.84
9	*p*-chloroaniline	27.69	27.84
10	unknown y, acridine derivative	22.55	22.51**
11	unknown 2	8.74	8.97**

* Result of micro *Carius* determination.
** Expected value.

Table II. Chlorine Determinations in Compounds Containing Nitrogen and Sulfur.

No.	Substance	Per Cent Chlorine	
		Observed	Computed
1	*p*-chlorobenzenesulfonamide	19.08	18.59
2	*p*-chlorobenzenesulfonyl chloride	33.32	33.65
3	*p*-toluenesulfonyl chloride	18.39	18.63
4	*p*-chlorobenzenesulfonanilide	12.92	13.27
5	2,5-dichlorobenzenesulfonamide	30.92	31.40
6	*p*-chlorobenzenesulfon-*p*-toluidide	12.44	12.61
7	*p*-chlorobenzenesulfon-*p*-chloranilide	23.42	23.51
8	*p*-chlorobenzenesulfon-*m*-chloranilide	23.38	23.51
9	*p*-chlorobenzenesulfon-*o*-chloranilide	23.24	23.51
10	*p*-chlorobenzenesulfon-*p*-nitranilide	11.05	11.36
11	chloramine-T (old sample)	11.64	11.38*

* Result of micro *Carius* determination.

Table III. Bromine Determinations in Compounds Containing Nitrogen and Sulfur.

No.	Substance	Per Cent Chlorine	
		Observed	Computed
1	*p*-bromaniline	46.22	46.51
2	α-bromo-iso-caproylglycine	31.52	31.74
3	*p*-bromobenzenesulfonamide	34.30	33.90
4	*p*-bromobenzenesulfonanilide	25.54	25.64
5	*p*-bromobenzenesulfonethylamide	29.96	30.30
6	di-(*p*-bromobenzenesulfon)-ethylamide	32.81	33.12
7	*p*-bromobenzenesulfon-iso-propylamide	28.42	28.77

Acknowledgment.

The thanks of the authors are due to Dr. *R. C. Shah* for his valuable advice and encouragement during the investigation.

Summary.

The apparatus of *Zacherl* and *Krainick* for the alkalimetric determination of chlorine and bromine in organic substances has been modified to extend its applicability to substances containing nitrogen and sulfur as additional elements. Determinations of the chlorine and bromine content of a number of such substances establish the usefulness and the efficacy of the modified method.

Zusammenfassung.

Der Apparat von *Zacherl* und *Krainick* für die alkalimetrische Bestimmung von Chlor und Brom wurde modifiziert, um den Anwendungsbereich des Verfahrens auch auf stickstoff- und schwefelhaltige organische Verbindungen auszudehnen. Die Nützlichkeit und vorteilhafte Anwendbarkeit des modifizierten Verfahrens wird durch Zusammenstellung damit erhaltener Analysenzahlen gezeigt.

Résumé.

L'appareil de *Zacherl* et *Krainick* pour le dosage alcalimétrique du chlore et du brome dans les matières organiques a été modifié pour étendre son emploi aux substances contenant de l'azote et du soufre comme éléments supplémentaires. Des dosages de chlore et de brome dans de telles substances établissent l'utilité et l'efficacité de la méthode modifiée.

Literature.

[1] *M. K. Zacherl* and *H. G. Krainick*, Mikrochem. **11**, 61 (1932).
[2] *H. Baubigny* and *G. Chavanne*, C. r. acad. sci., Paris **136**, 1197 (1903); **138**, 85 (1904).
[3] *M. Berend*, Biochem. Z. **252**, 362 (1934).
[4] *H. Dieterle*, Arch. Pharmaz. **259**, 73 (1921).
[5] *S. Nomura* and *J. Murai*, Bull. soc. chim. France (4) **35**, 217 (1924).
[6] *F. Utz*, Dtsch. Parfüm.-Ztg. **8**, 71 (1922).
[7] *F. Vieböck*, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 393 (1932); Mikrochem. **11**, 465 (1932).
[8] *J. B. Niederl* and *V. Niederl*, Micromethods of Quantitative Organic Analysis, 2nd Ed., John Wiley & Sons, Inc., New York. 1942. p. 168.
[9] *P. J. Elving* and *W. R. McElroy*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Ed. **13**, 660 (1941).
[10] *F. Pregl* and *J. Grant*, Quantitative Organic Microanalysis, 4th English ed., J. & A. Churchill Ltd., London. 1945. p. 86.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern.

Über die bei der percuprimetrischen Titration organischer Verbindungen entstehenden Abbauprodukte.

Von

G. Beck.

(Eingelangt am 29. Oktober 1952.)

Mit dreiwertigem Kupfer als Perjodatkomplex kann man, wie früher gezeigt wurde[1], eine Reihe organischer Substanzen* oxydimetrisch bestimmen. Um einen Einblick in den Reaktionsmechanismus zu gewinnen, wurden einige Substanzen mehr oder weniger weitgehender Oxydation unterworfen und untersucht, welche Spaltstücke sich nachweisen ließen. Frühere Untersuchungen ergaben, daß namentlich solche Verbindungen sich leicht oxydieren lassen, die mit dem Kupfer Chelatkomplexe bilden können, also z. B. Kohlehydrate und deren Derivate.

Aus dem Verbrauch von 8 Atomen Cu^{III} entsprechend 4 Atomen Sauerstoff bei der Oxydation von Glycerin wurde geschlossen, daß hierbei 3 Moleküle Ameisensäure gebildet werden:

$$C_3H_8O_3 + 4\,O = 3\,HCOOH + H_2O.$$

Es wurde daher untersucht, ob sich als Zwischenprodukt der Reaktion Formaldehyd nachweisen ließe. Dies war nun tatsächlich der Fall. Es scheint, daß die C—C-Bindungen unter Einführung je einer OH-Gruppe gesprengt werden und sich die freiwerdende mittlere HC—OH-Gruppe in Formaldehyd umlagert:

Von den zu untersuchenden Stoffen wurden jeweils 0,1-m Lösungen hergestellt, eine bestimmte Menge nach Zugabe von 20 ml 10%iger

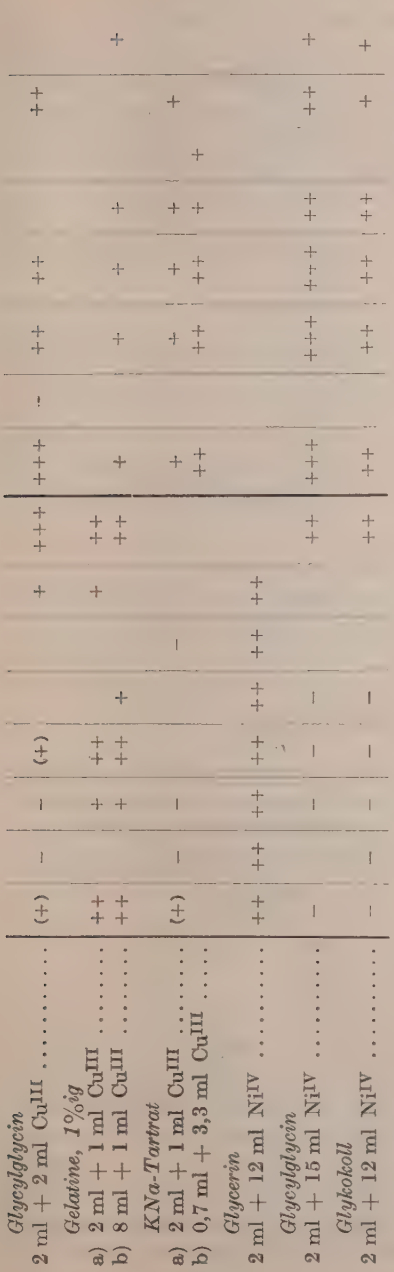
* Zweckmäßiger und bequemer als „anorganische und organische Verbindungen" wäre die kürzere Bezeichnung Anorganide und Organide, auch Komplexide, ferner Bioside für biologische Substanzen, Phytide usw.

Natronlauge mit verschiedenen Mengen 0,1-n Kalium-cupri-3-perjodatlösung oxydiert und im Fraktionierkolben der Formaldehyd abdestilliert. Der Nachweis erfolgte mikrochemisch nach Methoden, wie sie von *L. Rosenthaler*[2] beschrieben sind. In der folgenden Tabelle 1 sind die Resultate zusammengestellt. In der Rubrik „Formaldehyd" sind die mit folgenden Reagenzien erhaltenen Nachweisergebnisse verzeichnet: 1. Morphin in konzentrierter Schwefelsäure, 2. Resorcin in 50%iger Natronlauge, 3. Phenylhydrazin, Kaliumferricyanid und Salzsäure. 4. Phenylhydrazin, Kaliumferricyanid und Natronlauge, 5. Phenylhydrazin, Natriumnitroprussid und Natronlauge, 6. Tryptophan (Protein), Ferrichlorid und Salzsäure, 7. ammoniakalisches Silbernitrat und Natronlauge, 8. *Nesslers* Reagens. Es bedeuten (+) „kaum nachweisbare Spur", + „deutlich positiv", ++ „sehr starke Reaktion". Das Volumen 0,1-m Lösung der zu untersuchenden Stoffe und die für deren Oxydation verwendete Anzahl ml 0,1-n Kaliumcupri-3-perjodat (Cu^{III}) sind in der ersten Kolonne angegeben. Nach dieser Oxydation wurde destilliert und im Destillat die Reaktionen auf Formaldehyd mit den oben angegebenen Reagenzien ausgeführt. In einem Teil des alkalischen Destillationsrückstandes wurde aller Formaldehyd weggekocht, dann etwas Magnesiumband eingetaucht und vorsichtig unter guter Kühlung mit Schwefelsäure angesäuert, um Formiat zu Formaldehyd zu reduzieren. Dann wurde abermals destilliert, von der Perjodsäure herrührende Jodspuren mit Kupferpulver entfernt und auf Formaldehyd geprüft. Fiel die Reaktion positiv aus, so war hiermit Formiat als Spaltprodukt des Oxydationsvorganges nachgewiesen. Da Magnesium stets mit einer oberflächlichen Schichte von Karbonat bedeckt ist, gibt auch der Leerversuch eine positive Reaktion, weil offenbar Kohlendioxyd wenigstens teilweise zu Formaldehyd reduziert wird. Vergleichende Versuche ergaben, daß diese Formaldehydmengen nur mit Morphin-Schwefelsäure, nicht aber mit den übrigen Reaktionen der Tabelle 1 nachweisbar sind.

Ein zweiter Teil des ersten Destillationsrückstandes wurde nach vorsichtigem Ansäuern mit Schwefelsäure oder Essigsäure unter guter Kühlung auf Oxalsäure geprüft. In keinem Fall konnte mit Lanthan- oder Yttriumnitrat eine Oxalatfällung beobachtet werden. Zur Zerstörung des Perjodats wurde vor dem Ansäuern Natriumsulfit zugegeben. Mit Lanthannitrat entstand allmählich eine kristalline Fällung von Kaliumlanthansulfat, die sich im Aussehen deutlich von der käsigen Form des Lanthanoxalats unterschied. Diese Fällung wurde abzentrifugiert, zweimal mit Wasser ausgewaschen, in wenig sirupöser Phosphorsäure verteilt und mit Diphenylamin erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit wenig Wasser und Alkohol verdünnt: es trat keine Blaufärbung ein, Oxalsäure war also abwesend. Nach der Oxydation von Brenz-

Tabelle 1. Reaktionen auf Formaldehyd und Formiat.

	Formaldehyd								Formiat							
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Glycerin																
a) 2 ml + 2 ml Cu^{III}	++	++	++	++	++	+	+	+			++					
b) 2 ml + 4 ml Cu^{III}	+	+	+	+	+							++				
c) 1 ml + 8 ml Cu^{III}	–	–	–	–	–	–	–	–	++					++		
Mannit																
a) 1 ml + 2 ml Cu^{III}		–	–	–		–	+									
b) 1 ml + 6 ml Cu^{III}	++	+	++	++	++	++	++		++	+	++	++	++	++	++	
Äthylenglykol																
a) 1 ml + 1 ml Cu^{III}	++	++	++	++	+	++	+									
b) 1 ml + 2 ml Cu^{III}	++	++	++	++	+	+										
c) $^1/_2$ ml + 8 ml Cu^{III}	(+)	–	(+)	(+)	–											
Glukose																
a) 1 ml + 2 ml Cu^{III}	++	+	+	++	+		+									
b) 1 ml + 4 ml Cu^{III}		++	++	++	+		+									
Brenzcatechin																
a) 1 ml + 2 ml Cu^{III}	–	–	–	–	–	–	–									
b) 2 ml + 8 ml Cu^{III}	–	–	–	–	–	–	–									
Colamin																
1 ml + 2 ml Cu^{III}	++	–	++	++			++	++								
Äthylendiamin																
1 ml + 2 ml Cu^{III}	++	–	+	++		+	++	+++								
Glykolsäure																
1 ml + 2 ml Cu^{III}	–	–	–	–			–	–								
Glykokoll																
1 ml + 2 ml Cu^{III}	(+)	–	(+)	(+)	–			++	++		++	++	++			+++


Glycylglycin
2 ml + 2 ml Cu^{III} .....
Gelatine, 1%ig
a) 2 ml + 1 ml Cu^{III} .....
b) 8 ml + 1 ml Cu^{III} .....
KNa-Tartrat
a) 2 ml + 1 ml Cu^{III} .....
b) 0,7 ml + 3,3 ml Cu^{III} .....
Glycerin
2 ml + 12 ml Ni^{IV} .....
Glycylglycin
2 ml + 15 ml Ni^{IV} .....
Glykokoll
2 ml + 12 ml Ni^{IV} .....

catechin ließ sich kein Formaldehyd und auch keine Muconsäure auffinden. Es entstehen vielmehr schwarzbraune Oxydationsprodukte. Da beim Äthylenglykol nach der Oxydation kein Oxalat auftrat und auf 1 Mol 8 Mol Kaliumcupri-3-perjodat entsprechend 4 Mol Sauerstoff verbraucht wurden, muß man annehmen, daß Äthylenglykol zu Ameisensäure oxydiert wird:

$$C_2H_4(OH)_2 + \\ + 4\,O = 2\,HCOOH + 2\,H_2O.$$

Bei den in der Tabelle 1 angeführten Aminoverbindungen wurde außerdem noch mit *Nesslers* Reagens auf Ammoniak geprüft. In der Kälte war die Reaktion immer nur schwach, wobei nur eine opake Trübung auftrat, oder sie blieb überhaupt aus. Beim Erwärmen schied sich aber plötzlich ein brauner Niederschlag aus. Dieses Verhalten ist charakteristisch für Säureamide, besonders für Formamid. Butyramid und Valeramid geben erst nach längerem Kochen mit Nessler eine braune Fällung, Propionamid reagiert schon schneller und Formamid schon bei leichtem Erwärmen. Colamin und Hexamethylentetramin reagieren nicht mit Nessler, Methylamin gibt in der Kälte einen weißen Niederschlag, der beim Erwärmen eine zitronengelbe Färbung annimmt. Glykokoll reagiert nicht in der Kälte, beim Erwärmen entsteht erst ein gelbbrauner, dann dunkler werdender Niederschlag, schließlich grauschwarzes Quecksilber.

Mit Glykolsäure und Oxalsäure nehmen die *Nessler*-Lösungen beim Erwärmen nur eine gelbliche Färbung an, mit Glyoxylsäure wird in der Hitze braunes, dann grau werdendes Quecksilber gefällt. Mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in Eisessig liefern Colamin, Methylamin, Glykokoll und Ammoniak eine gelbe Färbung. Die Reaktion im Destillat des Colamins (Äthanolamin) war aber negativ. Das Colamin wird offenbar vom dreiwertigen Kupfer in folgender Weise oxydiert:

$$H_2NCH_2—CH_2OH + 2\,O = H_2NC\begin{matrix}=O\\ \diagdown H\end{matrix} + CH_2O + H_2O$$

Der Nachweis des Formaldehyds mit Resorcin in 50%iger Natronlauge wird hier wie bei allen folgenden aminhaltigen Verbindungen durch das entstehende Ammoniak oder das Formamid verhindert (s. Tabelle 1, Reaktion 2!).

Die Anwesenheit von Aminogruppen begünstigt deutlich die Bildung von Formaldehyd, wahrscheinlich weil die weitere Oxydation zu Formiat gehemmt wird. Glykolsäure wird, wie aus den Spaltprodukten ersichtlich ist, zu Ameisensäure oxydiert:

$$HOCH_2—COOH + O = 2\,HCOOH$$

und es ist verständlich, daß hier kein Formaldehyd gefunden wird. Das Glykokoll seinerseits erleidet folgenden Abbau:

$$H_2NCH_2—COOH + O = H_2NC\begin{matrix}=O\\ \diagdown H\end{matrix} + HCOOH.$$

Die Oxydation geht hier aber viel langsamer als beim Colamin, Äthylendiamin oder Glycylglycin, schneller verläuft sie erst in der Siedehitze. Bei letzterem wird in einer ersten, schnell verlaufenden Phase Formamid und Formaldehyd gebildet. Dies würde folgender Reaktion entsprechen:

$$H_2NCH_2CO \cdot NH \cdot CH_2COOH + O + H_2O\,(= 2\,OH) =$$
$$= H_2NCH_2COOH + H_2NC\begin{matrix}=O\\ \diagdown H\end{matrix} + HCOOH.$$

Das hierbei entstehende Glykokoll wird in einer viel langsamer verlaufenden Reaktion weiter oxydiert. Nach diesem Schema werden wohl auch die Proteine durch dreiwertiges Kupfer oxydativ abgebaut. In der Tat findet man nach dem Abbau der Gelatine, die ja sehr viele Glycingruppen enthält, alle diese Abbauprodukte wieder: Formaldehyd, Formiat und Formamid. Nach dem oxydativen Abbau von 0,7 ml 0,1-m Kaliumnatriumtartratlösung mit 3,3 ml Cupri-3-perjodatlösung wurde im Destillationsrückstand eingehend auf Oxalsäure geprüft. Mit Gipswasser entstand eine weiße Fällung. Es wurde nun mit Essigsäure angesäuert,

wobei der blaugrüne Kupferniederschlag sich nach gelbgrün verfärbte, und dann wurde das Kupfer mit Ammoniak herausgelöst. Ohne vorheriges Ansäuern gelingt dies nicht. Vom weißen Calciumniederschlag wurde abzentrifugiert. Er löste sich in Essigsäure, es war also kein Oxalat vorhanden. Auch nach der Oxydation von 2 ml 0,1-m Seignettesalzlösung mit 1 ml Cupri-3-perjodatlösung konnte kein Oxalat gefunden werden. Dagegen scheint als Zwischenprodukt Glyoxylsäure aufzutreten. Es ist aber schwierig, in Gegenwart von Perjodat solche Nachweise zu erbringen. Nach dem Ansäuern des Destillationsrückstandes mit Essigsäure erzeugte Phenylhydrazin eine bräunlichrote Fällung, die sich in Chloroform mit orangegelber Farbe löste. Ähnliche Erscheinungen traten auf, wenn man Oxalsäure mit Magnesium zu Glyoxylsäure reduzierte, mit Phenylhydrazinhydrochlorid versetzte und mit Natriumacetat abpufferte. Im Destillationsrückstand waren nach Reduktion mit Magnesium die Reaktionen auf Formaldehyd positiv, es hatte sich also Formiat gebildet:

$$C_4H_6O_6 + O + H_2O = 4\ HCOOH.$$

Es wurden auch einige Abbauversuche mit Kalium-nickeli-4-perjodat, $K(Ni^{IV}JO_6)$, vorgenommen. Die Oxydation des Glycerins durch das vierwertige Nickel erfolgt viel langsamer als durch das dreiwertige Kupfer. In der Siedehitze wird die dunkelbraune Lösung aber rasch entfärbt, es bildet sich ein weißer Niederschlag und die Reaktionsprodukte sind die gleichen wie beim Kupfer. Das Glycylglycin wird von vierwertigem Nickel ebenso rasch oxydiert wie vom dreiwertigen Kupfer und es bilden sich farblose Nickelosalze. Das Glykokoll wird wiederum nur sehr langsam angegriffen, schneller erst in der Siedehitze. Die Abbauprodukte sind die gleichen wie die durch dreiwertiges Kupfer erzeugten. Es fällt nur auf, daß die Reaktionen auf Formaldehyd nach dem Abbau mit Nickel-4-perjodat stärker ausfallen als beim Kupfer-3-perjodat. Es scheint, daß die Oxydation des Formaldehyds zu Formiat durch Nickel langsamer erfolgt als durch Kupfer.

Zusammenfassung.

Die bei der Oxydation organischer Verbindungen mit Kaliumcupri-3-perjodat und Kaliumnickeli-4-perjodat entstehenden Abbauprodukte wurden untersucht. Bei Verbindungen, die an benachbarten C-Atomen Oxy- oder Aminogruppen enthalten, entstehen als Spaltstücke Formaldehyd bzw. Formamid. Jener geht bei weiterer Oxydation in Formiat über.

Summary.

A study was made of the degradation products obtained from the oxidation of organic compounds with potassium-cupri-3-periodate and potassium-

nickeli-4-periodate. Compounds which contain hydroxy or amino groups on adjacent C-atoms, yield formaldehyde or formamide as fission products. The former goes over into formate on further oxidation.

Résumé.

On examine les produits de dégradation oxydative de composés organiques avec le cuivre-3 periodate de potassium et le nickel-4 periodate de potassium. Chez les composés qui contiennent sur des atomes de carbone voisins des groupes hydroxy ou amino, on obtient comme produits de dégradation le formamide et le formaldéhyde. Ce dernier se transforme en formiate par oxydation plus poussée.

Literatur.

[1] *G. Beck*, Mikrochem. **39**, 22 (1952); **38**, 1, 152 (1951).

[2] *L. Rosenthaler*, Der Nachweis organischer Verbindungen, 2. Aufl., F. Enke, Stuttgart. 1923.

Laboratoire de Chimie-Physique, Institut Supérieur Technique, Lisbonne.

Une stilliréaction pour le Fer à l'aide de l'Oxine.

Par

Arthur de Sousa.

(Reçu le 28 novembre 1952.)

Lorsqu'on ajoute une solution alcoolique d'oxine à une autre légèrement acide, contenant un sel ferrique, il se forme un complexe de couleur noir-verdâtre correspondant à la formule $Fe(C_9H_6ON)_3$[1], réaction bien connue et qui sert à la séparation et à la détermination du fer[2].

En nous basant sur les travaux de *Kolthoff*[3] qui indiquent 0,5 mg/litre comme sensibilité de formation du complexe ferrique, nous avons élaboré une méthode simple et à la fois rapide, permettant de reconnaître la présence de quelques γ de fer, même quand celui-ci est accompagné de manganèse, chrome, vanadium, molybdène, tungstène et uranium.

En solution acide, à part le fer (Fe^{+++}), d'autres cations sont également précipités par l'hydroxyquinoléine (*Cu*, *V*, *Mo*, *U*, Al, *Co*, Zn, Th, *Ni*, *Ti*, *Bi*, *Cd*, *Mn*, *W*). Les symboles chimiques en italique donnent des complexes colorés qui peuvent masquer la couleur de celui de fer. Il est donc indispensable d'éliminer ces causes pertubatrices de la réaction.

A la solution contenant le fer (Fe^{+++}) on ajoute quelques gouttes d'acide azotique pour oxyder tout le fer, puis un bon excès d'acide chlorhydrique et l'on chauffe à l'ébullition. On filtre en écartant le résidu. Le filtrat est porté à l'ébullition et on y ajoute une crême d'oxyde de zinc (non carbonaté) en excès. On filtre. Le précipité est dissous dans une petite quantité d'acide chlorhydrique et la solution sert pour la détection du fer. Elle ne contient pas de cations pouvant interférer dans la formation du complexe oxine-ferrique.

Mode Opératoire.

La substance à analyser est amenée en solution par une des méthodes d'attaque usuelles. On la rend acide afin d'éviter la précipitation du

fer. Suivant la teneur en fer, 0,5 à 2 g de matière suffisent. Le volume de la solution d'essai doit être environ 25 ml.

On ajoute 2—3 gouttes d'acide nitrique concentré et l'on porte la solution à ébullition sur une plaque chauffante électrique. On filtre en écartant le résidu. Le filtrat est porté à ébullition.

On prépare entre temps une crême d'oxyde de zinc (pro analysi, sans carbonate) avec de l'eau distillée dans une capsule de porcelaine. Une fois bien homogène, la crème est versée lentement dans le filtrat en ébullition contenant Fe^{+++}. On cesse d'ajouter l'oxyde de zinc dès qu'il ne se dissout plus et qu'il forme un précipité blanc.

On filtre sur un papier à pores fins et l'on écarte le filtrat. On lave le précipité à l'eau chaude une ou deux fois. Le contenu du filtre est dissous dans la quantité minimum d'acide chlorhydrique concentré. On peut verser l'acide dans le filtre même.

Au cas où la solution serait trop acide on ajoutera de l'ammoniaque pour neutraliser l'excès d'acide. Il faut toutefois éviter de précipiter le fer. Si le volume de la solution d'essai est beaucoup plus que 25 ml, on concentre la solution par évaporation. C'est de cette solution (à froid) que l'on prélèvera une goutte pour le micro-essai du fer.

Le réactif est une solution alcoolique fraîchement préparée à 5% de 8-hydroxyquinoléine. On placera une goutte du réactif sur un papier filtre (Whatman No 542, par exemple). On laisse la goutte s'étendre et l'on place au milieu de la région humectée une goutte de la solution d'essai.

Si le fer est présent, une tache noir-verdâtre ou souvent un anneau apparaîtra au bout de quelques secondes. Lorsque la solution d'essai est encore trop acide, la tache n'apparaît pas aussi vite et avec un contour pas très net. Il suffit dans ce cas de placer le papier filtre humecté par la solution d'oxine et de fer, au-dessus d'un flacon d'ammoniaque concentrée débouché.

Suivant la technique décrite, il est possible de mettre en évidence la présence de $10\,\gamma$ de Fe^{+++} contenus dans une goutte de la solution ferrique. Comme pour toutes les réactions nouvelles, il faut se faire la main en utilisant des solutions ferriques de concentration connue et en les diluant progressivement pour se rendre compte de la sensibilité et de la limite de perceptibilité.

Dans nos expériences avec des mélanges de sels de Mo, V, W, Cu, Co, U, Ni, Ti, Mn avec $FeCl_3$, la concentration des éléments étrangers était supérieure à 10 fois celle de l'ion ferrique. Nous avons observé qu'après la séparation des éléments nuisibles à la réaction du fer, une petite goutte permettait de mettre en évidence $10\,\gamma$ de fer. Des concentrations inférieures conduisent à des résultats douteux.

Résumé.

Une stilliréaction est décrite pour la détection du fer à l'aide de l'oxine. L'essai se fait sur papier filtre imbibé d'une solution alcoolique d'oxine et d'une goutte de la solution d'essai. La technique pour l'élimination des cations perturbateurs est décrite en détail et l'on peut reconnaître la présence de 10 γ de fer dans une goutte.

Zusammenfassung.

Eine Tüpfelreaktion zum Nachweis des Eisens mit Hilfe von Oxin wird beschrieben, wobei ein Tropfen der Probelösung auf mit alkoholischer Oxinlösung getränktes Filtrierpapier gebracht wird. Die Entfernung störender Kationen wird eingehend beschrieben. Die Anwesenheit von 10 γ Eisen in einem Tropfen läßt sich mit Hilfe dieser Reaktion erkennen.

Summary.

A spot reaction is described for the detection of iron with the aid of oxine. The test is made on filter paper impregnated with an alcoholic solution of oxine and a drop of the test solution. A detailed description is given for the technique employed to remove the interfering ions. It is possible to detect 10 γ iron in one drop.

Bibliographie.

[1] *R. Berg*, Die analytische Verwendung des o-Oxychinolins (Oxin) und seiner Derivate, 2. Aufl., F. Encke, Stuttgart. 1938. — *K. Strauß*, Aluminium Non-Ferrous Rev. **2**, 418 (1937).

[2] *R. Berg*, J. prakt. Chem. **115**, 178 (1927). — *G. J. W. Ferrey*, Quart. J. Pharmac. **15**, 251 (1942). — *A. M. Zan'ko* et *G. A. Butenko*, Zavodskaja Labor. **5**, 415 (1936). — *H. Navez*, Ing. chim. **23**, 1 (1939). — *R. Berg*, Z. analyt. Chem. **76**, 191 (1929). — *M. E. Cattelain*, J. pharm. chim. **11**, 484 (1930).

[3] *I. M. Kolthoff* et *N. H. Furman*, Volumetric Analysis, J. Wiley & Sons, New York. 1929. Vol. 2, p. 479.

Département de Microchimie de l'Université Libre de Bruxelles.

Chromatographie sur papier des Molybdates. Titrage direct des taches de Molybdène chromatographié, séparé du Chrome et du Vanadium*.

Par

A. Lacourt, Gh. Sommereyns, A. Stadler-Denis**, et G. Wantier.

Avec 3 figures.

(Reçu le 3 décembre 1952.)

La chromatographie inorganique sur papier est beaucoup plus récente que celle qui s'occupe de la séparation des corps organiques. L'emploi des solvants organiques purs, mélangés, complexant ou non, a été d'une grande utilité pour augmenter le pouvoir séparateur des développants[1], et apporter dans le domaine inorganique une contribution effective.

Les séparations chromatographiques qualitatives ont d'abord été poussées comme méthode nouvelle de microanalyse qualitative inorganique. Les *Rf* servent comme moyen d'identification à la fois pour les éléments et leur produits de réaction, colorés ou fluorescents avec les réactifs analytiques organiques[2]. Les taches chromatographiques qualitatives ne doivent pas séparer chaque élément. Le résultat est atteint pourvu que dans la tache globale, chaque élément y soit identifiable.

Rares sont les laboratoires qui se sont efforcés de rendre ces séparations assez complètes pour obtenir des taches indépendantes. Pour arriver à n'avoir qu'un seul élément dans chaque tache, il faut étudier longuement leurs conditions de développement et les facteurs qui influent sur celui-ci.

Bien que l'on ait le pressentiment que ces migrations d'éléments sont liées à l'adsorption, le partage, l'échange d'ions avec le papier et leur extraction sélective par les solvants, aucun fil conducteur n'est actuellement apparu, qui permette de prévoir la position des taches, ni le genre de solvant à utiliser pour développer.

* Cette recherche a bénéficié d'un subside du Fonds National de la Recherche Scientifique. Nous en témoignons ici notre sincère gratitude.

** Travail exécuté en vue de l'obtention du grade de Licencié en Sciences Chimiques (Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles), juillet 1952.

Différents subterfuges permettent de trouver les conditions adéquates de développement et nous examinerons par la suite comment en jouant sur quelques facteurs il est possible de modifier l'allure d'un chromatogramme.

Il est bien évident que le problème change selon les éléments en présence et selon la nature de l'élément à isoler. On peut envisager de développer les éléments mineurs (traces) d'un alliage en maintenant le constituant principal au dépôt. Les alliages à base d'aluminium seront traités ainsi parce que l'aluminium est précipité facilement au dépôt alors que ses compagnons migrent[3]. Il en va autrement avec les alliages à base de fer qui s'analysent plus facilement par chromatographie si l'on élue le fer (constituant principal) d'abord. Les éléments mineurs se placent selon leur nature entre le dépôt et le fer.

Ce n'est donc qu'après un très long tâtonnement que les conditions spéciales de séparation quantitative sont fixées, et ces conditions conviennent au problème particulier étudié, mais ne peuvent être transposées à la résolution d'autres problèmes.

Nous avons antérieurement déjà développé le molybdène à l'état de molybdate, pour le séparer de la silice et du bore. Le saturant était la 2-butanone contenant 5 ml% d'acide chlorhydrique concentré, le développant était l'acétone contenant aussi 5 ml% d'acide chlorhydrique conc. Ces conditions ne conviennent absolument pas lorsqu'il s'agit de séparer cet élément du chrome et du vanadium. Ces derniers sont dispersés dans l'acétone chlorhydrique et migrent avec le molybdène sans s'en séparer. Le molybdène était développé sans sécher la tache, alors que ce procédé s'est avéré totalement impropre à la séparer du chrome, du vanadium et du fer. Le problème a donc dû être réétudié.

La question traitée ici se pose pour isoler, identifier et éventuellement doser les principaux éléments traces des aciers spéciaux: tungstène, chrome, vanadium, molybdène. Ces éléments interfèrent dans les dosages les uns des autres. La séparation quantitative de l'un d'entre eux par voie chimique est longue et offre peu de garanties. Il faut en plus dans un tel problème, ne point être gêné par le fer de l'acier qui accompagne en masse ces éléments mineurs. Les solutions préconisées aujourd'hui pour isoler et doser le molybdène sont satisfaisantes en présence de fer, de molybdène et de chrome d'une part, et d'autre part elles sont aussi satisfaisantes pour résoudre un mélange de fer, de molybdène et de vanadium. Les taches obtenues sont nettes, individuelles et dosables. Les résultats relatifs au chromatogramme du molybdate seront seuls communiqués pour l'instant.

Pour caractériser et localiser la tache du molybdène, on se sert de la notion de *Rf*. Cette notion est imparfaite lorsqu'il s'agit de localiser une tache de façon précise. Des éléments peuvent avoir des *Rf* très

différents et cependant ne point présenter des taches séparées. C'est pour cette raison que nous avons décidé d'adopter deux *Rf* pour chaque élément.

La tête de la tache est localisée par un Rf_t et la queue de la tache par un Rf_q, ou dans nos notations antérieures, respectivement B/C et A/C. On trouvera donc dans les renseignements qui vont suivre deux chiffres pour caractériser la tache de chaque élément et la moyenne des deux serait le *Rf* habituel de la littérature.

Pour que deux éléments soient séparés ou séparables, il est nécessaire que le Rf_t (B/C), de l'un soit plus petit que le Rf_q (A/C) de l'autre. C'est ce résultat que l'on cherche à obtenir dans une séparation quantitative. C'est en jouant sur les différents facteurs que l'on poursuit l'étude des variations du chromatogramme, jusqu'à obtenir celui qui rend possible la séparation quantitative.

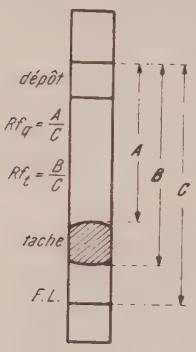


Fig. 1.

L'étude suivante comporte donc la recherche des conditions d'obtention de taches séparées de molybdène, en fonction de sa séparation d'avec le fer et le chrome ou le vanadium. C'est la partie *qualitative*. La *quantitative* comporte la mise au point des méthodes de dosage à l'échelle du microgramme, d'abord sur une solution, ensuite sur des bandelettes de papier et en dernier lieu sur des bandelettes chromatographiées portant une tache de molybdène de 10 microgrammes.

Le fait de travailler sur des taches isolées nettes, même en séparation d'avec d'autres éléments, présente un avantage dans la liberté du choix de la technique de dosage de cet élément. Aucune interférence n'étant plus à craindre, le meilleur réactif ou la méthode la plus sensible est utilisable pour caractériser ou doser chaque élément. Ceci est exact pour autant que ni la nature de la solution de base, ni celle du développant n'interfèrent. Nous verrons que lorsque le dosage final se pratique par titrage direct comme c'est le cas ici, la nature de la solution de base peut être une contingence insurmontable. Lorsque de telles interférences existent il est encore possible de s'en débarrasser en incinérant la tache chromatographiée. Certains éléments ne se laissent pas incinérer sans perte et dans ce cas l'élution de la tache est le seul moyen de passer à son dosage.

I. Analyse chromatographique qualitative du Molybdène.

Matériel et méthodes employées.

La chromatographie se fait en *cuves de verre* recouvertes d'une plaque scellée à la plasticine (26 × 26 × 38 cm), selon la méthode en usage à l'U. L. B. Huit bandelettes de papier Whatmann n° 4 de 1 cm sur

25 cm y sont introduites à la fois, après que la cuve ait été saturée pendant une nuit. Les solutions du *saturant* et du *développant* sont préparées *fraîchement* avec des solvants purs et distillés. La saturation exige 80 ml de saturant pour une cuve de cette dimension, le développement en exige 25 ml. Ce dernier est descendant.

La solution simple de Molybdate [$Mo_7 O_{24} (NH_4)_6, 4H_2O$] contient 0,184 g% *p/v* de sel, ce qui correspond à 10 γ d'élément dans un centième de ml de solution. Les *solutions de mélanges* de sels contiennent 10 γ de chaque élément par 0,01 ml. Les solutions de base sont de plusieurs types:

—neutre: le sel est dissous dans de l'eau bidistillée,
—chlorhydrique: le sel est dissous dans une solution contenant % *v/v* 10 ml d'acide chlorhydrique concentré,
—sodique: le sel est dissous dans une solution renfermant % *p/v* 7,5 g d'hydroxyde de sodium,
—tartrique: le sel est dissous dans une solution renfermant dans 100 ml 7,5 g d'hydroxyde de sodium plus 10 g d'acide tartrique,
—citrique: le sel est dissous dans une solution contenant pour 100 ml 7,5 g d'hydroxyde de sodium plus 10 g d'acide citrique,
—acétique: à 16 g d'acétate de soude dissous dans un peu d'eau bidistillée, on ajoute 12 g d'acide acétique glacial, puis le sel qui a été dissous dans un peu d'eau bidistillée. Ensuite sont ajoutés les 7,5 g de soude solide et d'eau bidistillée pour porter le volume à 100, le p_H de cette solution est 9.
—acétique-chlorhydrique: le sel est dissous dans une solution contenant 10 ml d'acide chlorhydrique conc., 16 g d'acétate de soude, 12 g d'acide acétique glacial et de l'eau bidistillée pour faire 100 ml.

Les bandelettes de papier filtre Whatman n° 4 mesurent 1 cm sur 25 et c'est à 3,5 cm du bord supérieur qu'est déposée la solution à analyser. Une goutte de 0,01 ml fait une tache de un centimètre de diamètre. Le papier est manipulé avec prudence pour éviter les contaminations, d'où nécessité d'employer des ciseaux et des pinces en acier inoxydable, ou recouvertes de verre.

La *prise* de 0,01 ml contenant 10 γ d'élément est prélevée d'une microburette automatique horizontale graduée en millièmes de millilitre. La prise peut être développée directement humide (p. n. s.), soit après séchage à la lampe infra rouge (38° C, 10 minutes) (p. s.).

Le révélateur des taches chromatographiées est l'oxine acétique. Elle est préparée de la manière suivante et vaporisée sur les bandelettes après développement et départ du solvant: 1 g d'hydroxyquinoléine, 24 g d'acide acétique glacial, 16 g d'eau bidistillée. Une part de cette solution stock est diluée dans deux parts d'eau. A 100 ml de cette dernière solution on incorpore 10 g d'acétate de sodium.

Le processus de développement se poursuit pendant une durée qui varie avec la nature du solvant employé, soit ici de 30 minutes à 4 heures, jusqu'au moment où le front liquide atteint au maximum un niveau situé à 20 cm du dépôt.

Mesure des taches. Pour découper les bandelettes au moment d'effectuer l'analyse quantitative il faut que, sans les révéler, l'emplacement de chaque anion soit connu. Or, les fronts liquides sur deux bandelettes n'ont jamais exactement le même avancement et c'est pour cela qu'on emploie les Rf, Rf_t et Rf_q pour localiser les taches.

Lorsque les bonnes conditions de chromatographie sont trouvées, les valeurs de Rf_q et Rf_t sont constantes et spécifiquement caractéristiques pour chaque élément.

Il est évident que pour avoir une séparation entre deux éléments, il faut que le Rf_t d'une tache soit inférieur au Rf_q de la tache d'un autre élément le précédant dans la chromatographie. Ces grandeurs n'ont de sens que dans le cas de chromatogrammes reproductibles. En effet, pour un mauvais couple saturant-développant, les taches sur bandelettes différentes peuvent avoir des localisations très différentes, d'une bandelette à l'autre et d'une fois à l'autre.

Exemple de reproductibilité des taches chromatographiées.
(emprunté à la chromatographie du Molybdène.)

Rf_q	Rf_t
0,69	1,00
0,68	1,00
0,61	1,00
0,71	1,00
0,74	1,00

Saturant = Développant: Alcool amylique 60 ml
Benzène 10 ml
Acide chlorhydrique conc. 30 ml

Développement descendant.
Durée 240 minutes.
Solution: HCl conc. 10 ml% *v/v*, + 0,184 g de $Mo_7O_{24}(NH_4)_6 \cdot 4H_2O$ % *p/v*.
Prise séchée: 0,01 ml contenant 10 γ de molybdène.
Dans ces conditions, et à partir de solutions de mélanges, on obtient de bonnes séparations Cr/Mo, V/Mo, W/Mo.
Le chrome et le vanadium chevauchent légèrement.

Facteurs influençant l'allure d'un chromatogramme.

Les travaux actuellement en cours au laboratoire de Microchimie (U. L. B.) ont appris qu'en agissant sur certains facteurs, on peut modifier l'allure d'un chromatogramme, tels:

a)—la nature du papier,

b)—la nature de la solution à analyser,

c)—la nature du saturant et la durée de saturation, la nature du développant, la relation saturant-développant,

d)—le sens du développement.

a)—*Nature du papier.*

Il est important que les expériences se fassent sur le même type de papier pour avoir une épaisseur, une porosité, et un état de pureté constants. L'état de dessication du papier peut influencer la séparation. C'est pour cette raison que les expériences d'orientation se font en double, bandelettes séchées et bandelettes non séchées.

Le papier Whatman n° 4 employé contient dans ses cendres[4] (0,06 à 0,07%) 20 à 30% de silice, 40% de sels de calcium (avec un peu de magnésium), 20 à 30% de sels alcalins, des traces de fer et d'aluminium. et des traces encore plus infimes de cuivre et de plomb (1 à 2‰). Les anions de ce papier filtre sont principalement des silicates, sulfates, carbonates, de très petites quantités de chlorures et peut-être des traces de phosphates. Le p_H du papier est d'environ 8.

b)—*Nature de la solution à analyser.*

Le p_H de la solution et l'état de complexion de l'anion en solution influencent l'allure du chromatogramme. Du point de vue du p_H, les solutions neutres, alcalines et acides ont été essayées. En général, la solution neutre donne des taches plus dispersées, toutes choses égales.

Les taches peuvent être améliorées, dans le cas du molybdène, c'est-à-dire plus condensées, si à la solution alcaline on ajoute un complexant acide citrique, tartrique ou acétique, en gardant un $p_H > 7$ (voir tableau).

Le tableau suivant montre que les solutions d'éléments complexés donnent des taches dont on peut calculer A/C et B/C et qu'il y a donc séparation qualitative.

Influence de la mise en solution des anions sur leur migration.

Nature de la solution des anions	p. s.	p. n. s.	Cr		Mo	
			Rf_q	Rf_t	Rf_q	Rf_t
Neutre	+	+	relativement bonne séparation			
Alcaline	+	+	séparation qualitative, bonnes taches			
Alc. tartrique..	+		0,12	0,26	0,80	1,00
		+	0,07	0,21	0,82	1,00
Alc. acétique ..	+		0,15	0,30	0,80	1,00
		+	0,05	0,17	0,75	1,00

Saturant: (1:1) chloroforme-2-butanone.
Développant: acétone 71 ml, chloroforme 20 ml, acide chlorhydrique conc. 9 ml.
Prise séchée: 0,01ml contenant 10 γ de chaque élément.
Composition des solutions: voir préparation p. 271.

c)—*Nature du saturant et du développant.*

Tout solvant ou couple de solvants miscibles peut être employé à la chromatographie. Le même solvant peut servir pour saturer la cuve et développer la bandelette; deux solvants différents peuvent aussi être utilisés dans certains cas[5]. Dans ces recherches pour trouver un solvant adéquat, on se base sur la liste de *Strain*[6]:

Tetrachlorure de carbone, cyclohexane, sulfure de carbone, éther (anhydre, exempt d'alcool), acétone benzène, toluène, esters organiques, chloroforme, dichlorométhane, 1,2-dichloroéthane, alcools, eau (selon le p_H et la concentration en sels), pyridine, acides organiques, mélanges d'acides ou de bases avec eau, alcools ou pyridine.

L'emploi d'un saturant différent du développant est un facteur permettant d'agir sur la migration et aussi d'augmenter le nombre de séparations possibles.

Dans l'exemple suivant le même développant a été employé (acétone 71 ml, chloroforme 20 ml, acide chlorhydrique conc. 9 ml) en variant le saturant: (1°) un mélange (1:1) chloroforme, 2-butanone; (2°) alcool amylique. La séparation avec le saturant amylique est plus lente, mais beaucoup plus efficace.

Le fait de saturer la cuve avant le développement rend les fronts liquides ainsi que les résultats plus reproductibles et améliore les taches.

Le p_H du saturant et du développant est un facteur qui influence le chromatogramme comme le montre le tableau suivant:

Influence de l'acidité du développant.

Composition du développant			p. s.	p. n. s.	taches
ml Acétone	ml $CHCl_3$	ml HCl			
79	20	1	+	+	—dispersées
75	20	5	+	+	—assez belles taches, pas de séparation Cr, Mo.
71	20	9	+	+	—séparation qualitative, bonnes taches de Cr, Mo.

Saturant: (1:1) chloroforme — 2 butanone.
Solution alcaline: hydroxyde de sodium 7,5 g/100 ml.
Prise: 0,01 ml contenant 10 γ de chaque élément.

La durée de saturation de la cuve peut, elle aussi, faire varier fortement les résultats des chromatogrammes. Dans ce travail les cuves ont été saturées pendant 12 à 15 heures.

d)—*Sens du développement.*

Trois sens de développement sont possibles: horizontal, ascendant ou descendant.

Résultats qualitatifs de chromatographie du molybdène.

Nature de la solution initiale 10 γ par 0,01 ml	Saturant (S) Développant (D)	Durée minutes	p. s.	p. n. s.	Molybdène	Chrome	Vanadium
HCl conc. 10 ml%	$S = D$ alc.amyl. 60 ml benzène 30 ml HCl conc. 10 ml	180′	+		Rf_q 0,75 Rf_t 1,00	0,01 0,18	0,01 0,39
idem	idem	240′	+		Rf_q 0,69/68/71 Rf_t 1,00/1,00 Rf_q 0,68/70/71 Rf_t 1,00/1,00	0,01/0,00 0,21/18/19	 0,06/8/7 0,36/38/37
HAc. NaAc. NaOH	idem	200′	+		Rf_q 0,74/74/75 Rf_t 0,90/95/95		0,07/9/10 0,47/40/47
HCl conc. 10 ml%	S/D $S =$ alcool amyl.	185′		+	Rf_q 0,70/0,70 Rf_t 1,00/1,00	0,15 0,45	0,22 0,55
	$D =$ acétone 71 ml chlorof. 20 ml HCl conc. 9 ml	200′	+	+	Rf_q 0,80/0,80 Rf_t 1,00/1,00	0,15/15 0,45/65	0,15/15 0,45/65
HAc. NaAc. NaOH	idem	180′	+	+	Rf_q 0,80/80 Rf_t 1,00/1,00		0,20/20 0,57/58
HAc. NaAc. NaOH	$S =$ chlorof. 50 ml 2-butanone 50 ml	240′	+		Rf_q 0,80/82 Rf_t 1,00/1,00	0,12/7 0,26/21	
	$D =$ acétone 71 ml chlorof. 20 ml HCl conc. 9 ml	240′		+	Rf_q 0,80/75 Rf_t 1,00/1,00	0,15/5 0,30/17	
Tartrique	idem	idem	+	+	idem	idem	

Le développement horizontal sur rondelle de papier filtre est trop rapide et rend l'analyse quantitative moins commode.

Les développements ascendant et descendant sont plus semblables, mais l'ascendant est beaucoup plus lent et les taches moins nettes que celles faites, dans les mêmes conditions, par développement descendant (tableau). D'autre part le développement ascendant ne progresse plus une fois que le développant a atteint le haut du papier.

Influence du sens du développement.

Sens du développement	Durée minutes	p. s.	p. n. s.	Cr		Mo	
				Rf_q	Rf_t	Rf_q	Rf_t
Ascendant	315	+		0,25	0,85	0,67	1,00
			+	0,30	0,90	0,67	1,00
Descendant	250	+		0,35	0,62	0,75	1,00
			+	0,10	0,40	0,55	1,00

Saturant: (1:1) chloroforme — 2-butanone.
Développant: acétone 71 ml, chloroforme 20 ml, acide chlorhydrique conc. 9 ml.
Solution alcaline: hydroxyde de sodium 7,5 g/100 ml de chromate et molybdate.
Prise: 0,01 ml contenant 10 γ de chacun des éléments.

Les conditions de développement données dans ce dernier exemple conduisent à une bonne séparation du molybdène et du chrome et peuvent être maintenues pour l'étude du microdosage de la tache chromatographiée de molybdène.

II. Analyse quantitative du Molybdène chromatographié.

La méthode de séparation du molybdène ne peut être proposée comme quantitative que si le dosage de la tache est effectivement tel.

Des traces de molybdène pourraient rester au dépôt ou être dispersées le long du papier et, dans un tel cas, le dosage de la tache serait déficitaire par rapport à la solution de départ.

Plusieurs voies peuvent être suivies pour doser cette tache chromatographiée:

1° La tache mesurée par comparaison avec une bandelette qualitative est découpée, éluée, et dans l'éluat l'élément est dosé par une méthode appropriée ci-joint (méthode de *Roscoe Ellis*, Jr. et *R. V. Olson*[7]).

2° La tache mesurée, découpée, est incinérée et le résidu calciné mis en solution est dosé.

3° La tache mesurée, découpée est titrée directement sur place.

1°—Elution et dosage absorptiométrique du molybdène.

Le thiocyanate de *potassium* forme avec les molybdates en solution un complexe jaune d'ambre qui peut servir au dosage absorptiométrique

de petites quantités de molybdène. La sensibilité de ce dosage est accrue si le complexe est réduit à chaud par l'acétone; ce réducteur présente sur les autres l'avantage d'une stabilité plus grande de coloration.

Cette méthode mise au point par *Roscoe Ellis*, Jr. et *R. V. Olson* nous a servi pour tracer le diagramme de dosage et pour contrôler l'élution quantitative du molybdène chromatographié.

a) Mode opératoire, diagramme de référence.

La solution titrée de molybdène est prélevée avec précision à la microburette dans un matras de 10 ml. On y ajoute 2,8 ml d'acide chlorhydrique (1:1), 1 ml de solution de sulfocyanure de potassium à 10 g%, 3 ml d'acétone distillée. Le matras est chauffé au bain d'eau entre 40 et 65° C pendant 45 à 50 minutes, refroidi à la température ambiante et complété à 10 ml avec de l'eau bidistillée. La lecture peut se faire immédiatement au Spekker (filtre 602-Water-setting 0,500-cuvettes de 1 cm).

Le diagramme a été établi pour 5, 8, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 12 microgrammes. Cette mesure est accompagnée d'un blanc réactifs dont la mesure exacte est faite, après y avoir mis 10 γ de molybdène, par comparaison avec une référence de 10 γ.

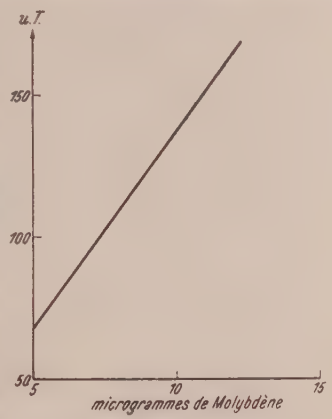


Fig. 2.

Quantité de Molybdène prélevé, en γ	Unités lues au tambour							Moyennes
5,0	68,0	69,4	64,8	66,6	68,4	65,6		67,1 ± 2,3
8,0	109,2	110,6	113,4					111,0
9,0	125,0	121,8	122,6					123,1
9,5	129,2	126,8	129,4					128,4
10,0	138,4	136,8	134,4	138,0	133,2	133,8	137,2	136,1 ± 3,7
	133,6	135,0	138,4	138,4	139,0	134,6	138,2	
	136,6	139,6	137,0	135,2	132,4	132,8		
10,5	145,4	144,0	142,4					143,9
11,0	153,0	151,2	151,2					149,1
12,0	161,4	161,8	156,2					159,8

b) Elution et dosage du molybdène, après développement.*

Les solutions de molybdène soumises au contrôle quantitatif après chromatographie, renferment 10 γ d'élément par 0,01 ml. La base est

* Cette partie de la recherche a été exécutée par Monsieur *A. Orban*.

en outre sodique ou chlorhydrique. La solution sodique renferme en plus du molybdène 7,5% *p/v* de soude; la solution chlorhydrique renferme à côté du molybdène 10 ml% *v/v* d'acide chlorhydrique conc.

Le développement précédant le contrôle a été fait de deux manières différentes:

1° Par l'acétone contenant 5 ml% *v/v* d'acide chlorhydrique conc., la cuve étant saturée de 2-butanone contenant 5 ml% *v/v* d'acide chlorhydrique conc. La durée du développement descendant est de 60'.

2° Par un mélange d'acétone 71 ml, de chloroforme 20 ml et d'acide chlorhydrique conc. 9 ml, la cuve étant saturée de 2-butanone et de chloroforme (1:1) *v/v*. La durée de ce développement a été de 170 minutes.

Une cuve est garnie de huit bandelettes, quatre de celles-ci servent pour le dosage quantitatif, deux autres seront révélées pour s'assurer de la reproductibilité de l'expérience, les deux dernières servent de blanc. Le blanc est une bandelette sur laquelle est déposée $\pm$ 0,01 ml de solution de base chlorhydrique ou sodique. Les six bandelettes portent à 3,5 cm du bord supérieur 0,01 ml de solution renfermant 10 γ de molybdène. Après chromatographie et localisation elles sont découpées sur une longueur de 10,3 cm en partant d'un niveau situé à 1 cm sous le front liquide.

L'élution du molybdène se fait par siphonage avec de l'eau bidistillée[5] et dure 180 minutes. L'éluat est recueilli dans un matras de 10 ml et les réactifs sont ajoutés dans l'ordre où ils ont été cités à propos de l'établissement du diagramme de référence. Sur l'ensemble des huit bandelettes soumises simultanément au développement, les quantitatives, non révélées, sont découpées sur une longueur de 10,3 cm d'après les indications qualitatives de localisation de la tache de molybdène. Les deux bandelettes portant 0,01 ml de solution de soude à 7,5 g% subissent dans les mêmes conditions le développement et l'élution pour constituer un blanc bandelette élué.

Chaque série de mesures est accompagnée de ce blanc bandelette et d'une référence de 10 γ de molybdène.

Les résultats de ces essais d'élution et de dosage du molybdate se trouvent résumés dans le tableau suivant.

Microdosage du *Molybdène* après élution (10 γ engagés).
Molybdène retrouvé en microgrammes, après élution par l'eau bidistillée.

	E. M.		E. M.		E. M.		E. M.	
10,1	+ 0,2	9,75	— 0,15	10,00	+ 0,1	9,80	—0,1	moyenne = 9,90 $\pm$ 0,1 γ
10,1	+ 0,2	9,85	— 0,15	9,95	— 0,05	9,70	—0,2	$\pm$ 1%
9,8	—0,1	9,85	— 0,15	10,10	+ 0,2			
10,2	+ 0,3	10,00	+ 0,1	10,00	+ 0,1			
10,2	+ 0,3	10,20	+ 0,3	10,20	+ 0,3			
10,3	+ 0,4	9,75	— 0,15	9,75	— 0,15			

2° Contrôle titrimétrique du molybdène chromatographié.

Toutes les opérations préliminaires — mises en solution, dépôt, développement — se font comme décrit. Une variété plus grande de solution a été expérimentée dans ce contrôle. Après localisation des taches, celles-ci sont découpées sur une longueur de 6 cm: 1 cm sous le front liquide et 2 cm au-dessus de la tache. Les morceaux de bandelettes ainsi découpés sont passés 10 minutes aux vapeurs ammoniacales, pour les

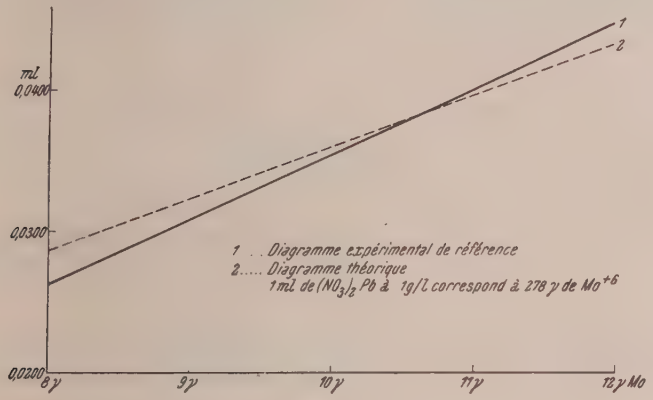


Fig. 3.

neutraliser, et encore 10 minutes à la lampe à I. R. ($\perp$ 38° C) pour éliminer l'excès d'ammoniac.

Le titrage du molybdène chromatographié se fait directement sur ces bouts de bandelettes chromatographiées; le *blanc* bandelette permettra d'évaluer les erreurs qu'entraînent le papier et les solutions.

Chacun de ces dosages demande un témoin dans lequel 0,050 ml de nitrate de plomb, versé en excès, donne l'intensité de coloration à obtenir en fin de titrage.

Nous verrons par la suite qu'il est incorporé à la liqueur à titrer ce même volume (0,050 ml) de nitrate de plomb. Les résultats donnés dans le tableau (p. 282) sont obtenus dans ces conditions. Les résultats consignés au tableau (p. 281) et le diagramme de titrage se rapportent à des déterminations sans addition de cet excès de nitrate de plomb (observation du virage).

Notons que grâce à la possibilité de *titrer directement* les bandelettes — fait entièrement nouveau — on supprime la double erreur due à l'éluant et aux produits du papier susceptibles d'être entraînés au cours de l'élution. Remarquons en passant que cette analyse sans élution raccourcit le processus de trois heures (durée de l'élution).

Méthode de titrage.

La méthode de titrage employée est due à *Evans*[8]. Elle se base sur le fait que le nitrate de plomb donne avec la diphénylcarbazide une coloration rouge, qui n'apparaît que lorsque tout le molybdate de plomb est entièrement précipité. Le terme du titrage est donc donné par l'apparition de cette coloration rouge.

Dans les titrages faits par l'auteur avec une solution de nitrate de plomb à 1 g/1000 ml, 1 atome de plomb correspond à 1,03 au lieu de 1,00 atome de molybdène. Ceci correspond donc à une erreur de 3/100 par excès. L'auteur dose jusque 1391,3 γ de Mo^{+6} dans 140 ml, c'est-à-dire à la limite environ 7 fois plus que nous.

Sensibilité du titrage du molybdate par le nitrate de Plomb à 1 gramme par litre.

Microgrammes	8	9	10	11	12
lectures en ml ...	0,0251	0,0310	0,0352	0,0398	0,0426
	0,0285	0,0310	0,0350	0,0407	0,0439
	0,0262				

La limite inférieure de la sensiblité de ce dosage avec les instruments dont on a disposé et dans les conditions de mise au point actuelle correspond à 8 γ.

Les réactifs employés sont:

1° L'indicateur 2,5 ml de pyridine distillée,
10,0 ml d'eau bidistillée,
0,17 ml d'acide nitrique ($d = 1{,}2$),
5,0 ml d'une solution de diphénylcarbazide à 1,5 g dans 100 ml d'éthanol.

Cette solution doit reposer deux nuits avant l'emploi.

2° Le tampon pyridique — p_H 7: 1 ml d'acide nitrique ($d = 1{,}2$), 14 ml de pyridine distillée complétés à 100 ml par de l'eau bidistillée.

La réaction entre le molybdate et la diphénylcarbazide se fait à la neutralité, or les bandelettes sont développées par une solution acide, d'où nécessité absolue d'un tampon pour les ramener à la neutralité.

3° La liqueur titrante: nitrate de plomb à 1 g/1000 ml.

Les godets dans lesquels se font les titrages sont préparés comme suit, au nombre de 4:

Dans le *premier godet*, pour permettre le dosage du molybdène chromatographié, se trouve le *témoin quantitatif*. Un morceau de bandelette*

* Ce morceau de bandelette est introduit de manière à reproduire les interférences éventuelles dues à la rétention du solvant développant dans le papier.

(6 cm) chromatographié, mais sans anion et sans solution de base (employée pour dissoudre le molybdate) — (pris n'importe où sur le blanc-bandelette) est additionné des réactifs:

a) 4,5 ml d'eau bidistillée,

b) 0,5 ml de tampon pyridique (2ème réactif),

c) 0,5 ml d'indicateur (1er réactif),

d) 1,5 ml d'éthanol recommandé pour accentuer la teinte, et de 0,0500 ml de nitrate de plomb titré pour atteindre un niveau de coloration facile à apprécier.

Résultats des titrages directs du molybdène chromatographié.

Nature de la solution initiale Mo	Référence $(NO_3)_2Pb$ ml	Mo γ	Titrage de la tache chromatographiée ml de $(NO_3)_2Pb$ (au virage)	Moyennes	γ Molybdène retrouvés	Erreur moyenne γ
acétique chlorhydrique 0,01 ml	0,0435	11,74	prises séchées:			
			0,0412		11,3	
			0,0398		11,0	
			prises non séchées:			
			0,0420		11,4	
			0,0430		11,6	
				M/4 0,0415	11,3	— 0,44
acétique sodique 0,01 ml	0,0355	10,00	p. s. et p. n. s.			
			0,0355 0,0348 0,0356			
			0,0356 0,0351 0,0364			
			0,0352 0,0342			
				M/8 0,0353	9,99	— 0,01
chlorhydrique conc. 10 ml% 0,01 ml	0,0427	11,56	p.s. 0,0431		11,6	
			0,0415		11,3	
			p.n.s. 0,0442		11,9	
			0,0432		11,7	
				M/4 0,0430	11,6	+ 0,04
	0,0440	11,86	p.s. 0,0441			
			p.n.s. 0,0432			
			0,0460			
			0,0449			
			0,0420			
			0,0428	*M*/6 0,0438	11,8	— 0,06
	0,0446	11,96	p.s. 0,0431			
			0,0420			
			0,0408			
			p.n.s. 0,0425			
			0,0422			
			0,0430	*M*/6 0,0423	11,5	— 0,46
	0,0445	11,96	p.s. 0,0448			
			0,0462			
			0,0432			
			0,0430	*M*/4 0,0443	11,9	— 0,06

Dans le *deuxième godet*, la *bandelette quantitative*, portant 10 γ de Mo^{+6}, coupée comme indiqué plus haut, est recouverte des réactifs a, b, c, d. Il faut y ajouter du nitrate de plomb titré jusqu'à égalité du niveau de coloration avec le témoin quantitatif.

Dans le *troisième godet*, pour permettre l'évaluation du blanc bandelette, se trouve le *blanc-témoin*. Un morceau de bandelette (6 cm) chromato-

Titrage direct du molybdène chromatographié, séparé du chrome et du vanadium*.

Saturant	Développant	$(NO_3)_2Pb$ ml**	Molybdène γ	Erreur en γ
	2 Références utilisées: 9,99 μ Mo^{+6} dans Mo + V. 10,00 μ Mo^{+6} dans Mo + Cr.			
2-butanone chloroforme (1:1)	acétone (71 ml) chloroforme (20 ml) HCl conc. (9 ml)			
	Mo/V	p. s.	9,98	— 0,01
	Mo/Cr		10,02	+ 0,02
alcool amylique	développant id.	p. s.		
	Mo/V	0,0357		
		0,0358	*M*/2 10,08	+ 0,09
		0,0378	*M*/2 10,42	+ 0,43
		0,0332	*M*/2 9,56	— 0,43
		p. n. s.		
		0,0349	9,94	— 0,05
		p. s.		
	Mo/Cr	0,0360	*M*/2 10,10	+ 0,10
		0,0348	9,88	— 0,12
		p. n. s.		
		0,0378	10,54	+ 0,54
alcool amylique (60 ml) benzène (10 ml) HCl (30 ml)	*S* = *D*	p. s.		
	Mo/V	0,0365	10,24	+ 0,25
		0,0379	10,59	+ 0,60
		0,0362	10,18	+ 0,19
		0,0340	9,74	— 0,15
		0,0365	10,24	+ 0,25
			M/5 10,19	+ 0,20
	Mo/Cr	0,0360	10,14	+ 0,14
		0,0322	9,98	— 0,02
		0,0368	10,30	+ 0,30
			M/3 10,14	+ 0,14

* Les solutions de départ contenant les mélanges d'anions sont uniquement chlorhydriques (10 ml% *v/v* HCl conc.).

** Déduction faite de l'excès de 0,050 ml.

graphié, mais sans anion (pris n'importe où sur le blanc-bandelette) est additionné de 0,01 ml de la solution quantitative de molybdate (10 γ de Mo^{+6}), des réactifs a, b, c, d et de 0,0859 ml de nitrate de plomb titré.

Nous avons vu que pour atteindre un niveau de coloration facile à apprécier le témoin quantitatif renferme déjà 0,0500 ml de nitrate de plomb titré. En outre, le titrage des 10 γ de molybdène ajoutés dans le blanc-témoin nécessite 0,0359 ml du même nitrate de plomb titré. Ceci porte à 0,0859 ml le volume de nitrate de plomb titré à ajouter dans le blanc-témoin. L'addition des 10 γ de molybdène est rendue nécessaire pour mesurer avec précision la valeur exacte des blancs réels, très faibles.

Dans le *quatrième godet*, le *blanc-bandelette*, découpé exactement comme la bandelette quantitative, portant 0,01 ml de solution de base et ayant subi le développement, est recouverte de 0,01 ml de la solution quantitative de molybdate (10 γ Mo^{+6}) et des réactifs a, b, c, d. Il faut y ajouter du nitrate de plomb titré jusqu'à égalité du niveau de coloration avec le blanc-témoin.

Le titrage s'effectue à l'aide de la microburette horizontale de 0,1 ml $\pm$ $\pm$ 0,0001, en lumière blanche. Du fait de la présence d'une bandelette de papier blanc dans la liqueur à titrer, il devient plus difficile d'apprécier une coloration. Cette difficulté est éliminée en entourant le bas du godet d'une bague de papier blanc de 2 cm. L'agitation, rendue nécessaire par la grande densité du nitrate de plomb, se fait par barbotage d'azote.

De cet ensemble il est à noter que la nature des solutions expérimentées n'influe pas sur les résultats. Le titrage des taches provenant de solutions acétiques est peut-être un peu moins facile à voir.

Les taches provenant de solutions tartriques et citriques sont toutefois impossibles à titrer.

Résumé.

Dans les conditions opératoires précisées ici, le molybdène chromatographié sur papier Whatman n° 4, se laisse doser par *absorptiométrie* à $\pm$ 1% près, pour une quantité de l'ordre de 10 microgrammes.

Le *titrage direct* de la même quantité de molybdène se fait à $\pm$ 3,5% près. Séparé du chrome et du vanadium par chromatographie, la précision du titrage après chromatographie reste du même ordre. La titration directe fait gagner trois heures sur l'absorptiométrie.

Zusammenfassung.

Bei Einhaltung der beschriebenen Versuchsbedingungen läßt sich Molybdän nach chromatographischer Adsorption auf Whatman-Papier Nr. 4 in der Größenordnung von etwa 10 γ mit $\pm$ 1% Genauigkeit durch Absorptiometrie bestimmen. Die direkte Titration gleicher Molybdänmengen läßt sich mit einer Genauigkeit von $\pm$ 3,5% ausführen. Nach chromatographischer Trennung von Chrom und Vanadium ergibt die Titration die gleiche Genauigkeit.

Somit lassen sich durch direkte Titration gegenüber der Absorptionsmessung drei Stunden Zeit gewinnen.

Summary.

Under the conditions outlined here, molybdenum chromatographed on Whatman paper No. 4, may be determined by absorption, within about $\pm$ 1%, for an amount of the order of 10 micrograms. The direct determination of this same quantity of molybdenum by titration can be made within about $\pm$ 3%. Separated from chromium and vanadium by chromatography, the precision of the titration after chromatography remains of the same order. The direct titration gains three hours over absorption.

Bibliographie.

[1] *T. V. Arden, F. H. Burstall* et collaborateurs, Nature **162**, 691 (1948). — *A. Lacourt* et collaborateurs, Nature **163**, 999 (1949). — *M. Lederer*, Science **110**, 115 (1949).

[2] *F. H. Pollard, J. F. McOmie*, J. Chem. Soc. London **1951**, 467, 471.

[3] *A. Lacourt* et collaborateurs, Analyst **77**, 943 (1952).

[4] *J. N. Balston* and *B. E. Talbot*, A Guide to Filter Paper Chromatography, H. Reeve Ansel and Co., Ltd., London. 1952.

[5] *A. Lacourt* et collaborateurs, C. r. acad. sci., Paris **232**, 2426 (1951); **234**, 2365 (1952).

[6] *H. H. Strain*, Chromatographic Adsorption Analysis, New York. 1945. — *W. Trappe*, Biochem. Z. **305**, 105 (1940).

[7] *R. Ellis* jr. et *R. V. Olson*, Analyt. Chemistry **22**, 328 (1950).

[8] *B. S. Evans*, Analyst **64**, 1 (1939).

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften.

Activities of the Metropolitan Microchemical Society of New York 1951—1952*.

(Received September 15, 1952.)

In January, 1952, the constitution of the Society was amended to provide that the newly elected Chairman-elect become Chairman of the Program Committee and the defeated Chairman-elect candidate hold the Chairmanship of the Symposium Committee for the following year. Twenty new members were received into the Society during the 1951–52 season. Officers for this year were: Chairman, Mr. *NS. Kuettel*; Chairman-elect, Dr. *Michael Cefola*; and Secretary-Treasurer, Rev. *George Hilsdorf*, S. J. The Executive Committee voted to make official the appointment of Dr. *A. A. Benedetti-Pichler* to represent the Society in international chemical affairs.

In September, 1951, a special meeting was held in order to make the acquaintance of several distinguished foreign chemists who were in New York City for the XII International Chemical Congress. Before the meeting the Society acted as host at a dinner given in honor of our foreign visitors. Dr. *Benedetti-Pichler* introduced the guests: Dr. *Clément Duval*, Laboratoire de Chimie, Sorbonne, Paris; Dr. *Fritz Feigl*, formerly from the University of Vienna, and now with the Department of Agriculture, Rio de Janeiro, Brazil; Dr. *Wolfgang Kirsten*, University of Uppsala, Sweden; Dr. *Hans Lieb*, University of Graz, Austria, and President of the Austrian Microchemical Society; Dr. *Janet Matthews* of England; Dr. *C. J. van Nieuwenburg*, Technical University of Delft, Holland, and President of the Section of Analytical Chemistry of the International Union of Pure and Applied Chemistry; and Dr. *Michael K. Zacherl*, Veterinary University of Vienna, Chairman of the Commission on Microchemical Techniques (IUPAC), and Editor of "Mikrochemie".

---

* Previous reports of the activities of this Society have been made by *L. K. Yanowski*, CaEN **21**, 301 (1943). — *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 112 (1948). — *L. K. Yanowski* and *M. Cefola*, Mikrochem. **38**, 172 (1951). — *L. K. Yanowski*, Mikrochem. **39**, 105 (1952).

At this meeting Dr. *Duval* gave a very interesting talk on the use of the *Chevenard* thermobalance which held the attention of about seventy-five members and guests.

The first regular meeting of the year was held at Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, N. J. Prior to the meeting the members were taken on a tour of inspection of the plant and laboratories followed by the presentation of a motion picture. The members were then guests of the Company at dinner. The speaker of the evening was one of the members of the society, *Charles Pifer*, Hoffmann La Roche, Inc., who spoke on Non-Aqueous Titrations. He emphasized that titrations in non-aqueous solutions are rapidly increasing in importance and applicability to organic compounds and pointed out that many compounds too weakly acidic or basic in aqueous solution can now be conveniently titrated in non-aqueous solvents. A new technique for the extraction of organic acids and bases served to demonstrate that the scope of non-aqueous titrations in organic chemistry is virtually unlimited.

Six regular meetings followed at the American Museum of Natural History and the eighth and last meeting of the year was held, as always, at Fordham University.

At the second meeting *F. E. McKenna*, Air Reduction Company, Inc., Murray Hill, New Jersey, discussed Fluoride and Fluorine Analysis. He stated that fluorides can be determined analytically by compound formation with elements from all the groups of the periodic table except the rare gases. His discussion, however, was limited to a consideration of certain elements of Group IV because of the frequency of their application in the analysis of fluorides.

The topic of High Frequency Titrations was taken up by *John H. Harley*, Health and Safety Division, U. S. Atomic Energy Commission, New York City. He showed how high frequency equipment is used to measure the electrical properties of a sample, and like most other physical measurements has been developed into an analytical tool. The two properties of the sample which may vary are the conductivity and the dielectric constant, and all high frequency apparatus is designed to measure either the absolute values or the changes in one or both properties.

A talk on Magnetic Measurements in Analytical Chemistry was given by *A. R. Kaufmann*, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts. Magnetic susceptibility is usually determined by measuring the force exerted on the specimen in an inhomogeneous magnetic field, and forces ranging from 0.01% to 100% of the weight of the specimen can be obtained with simple magnetic equipment. Mention was further made that absolute accuracies of about 1% and relative accuracies of 0.1% are readily obtainable.

The Chromatography of Colorless Organic Compounds was discussed in a paper presented by *John W. Sease*, Wesleyan University, Middletown, Connecticut. The speaker described the various techniques that have been made available, which make it possible to locate zones of colorless material on the chromatographic column. He mentioned that within the last few years several new techniques have been added to the older "classical" methods. Use of fluorescent adsorbents renders the whole column luminous on irradiation with ultraviolet light, and dark regions indicate zones in which non-fluorescent matter has been adsorbed. Phototubes or image convertors sensitive outside the visible range are also of value. High frequency oscillators have been employed to detect zones within the column. When substances containing radioactive tracers are chromatographed, the radioactivity offers a means of locating such zones.

C. O. Willits, Eastern Regional Research Laboratories, U. S. Department of Agriculture, Philadelphia, Pennsylvania, gave a report on the development of the Official Micro-Kjeldahl Method. Through collaborative study of methods for micro-Kjeldahl procedures and a statistical analysis of collaborators' results it was shown that: (1) selenium when used as a catalyst tends not only to shorten the digestion period but it also yields low nitrogen recoveries, (2) mercuric oxide catalyst will produce quantitative recoveries of nitrogen even from refractory organic compounds, (3) the temperature of the digestion must be above 350° C, and (4) the digestion time must be at least one hour for amines or other easily digestible materials, and four hours for the more refractory nitrogenous compounds.

The Determination of Total and Radioactive Carbon was discussed by *Donald D. Van Slyke*, Brookhaven National Laboratory, Upton, L. I., New York. The total carbon is determined by the wet combustion method of *Van Slyke* and *Folch*, with manometric measurement of the CO_2. Air-free reagents are used in the manometric chamber so that the zero manometric reading can be determined after ejecting the CO_2. This ejected CO_2 is used for measurement of C^{14} activity for which two methods have been developed. In method I the CO_2 is precipitated as $BaCO_3$. The $BaCO_3$ is filtered and the activity counted in a methane flow counter. In method II the CO_2 is transferred to a gas counter developed in the Brookhaven laboratory by *Bernstein* and *Ballentine*. The advantage of counting in the gas phase is that the count becomes a linear function of the amount of $C^{14}O_2$ because of the absence of self-adsorption.

At the final meeting of the year *Thomas S. Gardner*, Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, New Jersey, gave a lecture on the Recent Advances in the Prolongation of Life. The speaker claimed that research in aging

indicates that the life span may be increased by appropriate improvements in nutrients, prophylaxis of infectious diseases, control of the rate of aging, and improved cellular metabolism. The new science of gerontotherapeutics is the application on a practical basis of research in gerontology. A discussion of the basic scientific foundations of gerontotherapeutics and indications of work to be carried out comprised the main portion of the lecture.

The seventh annual microchemical symposium which was held at Fordham University, New York City, under the Chairmanship of *Al Mistretta*, Heyden Chemical Corporation, Princeton, New Jersey, also included an exhibition of some of the latest types of instruments used in microchemistry.

At this exhibit Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, Pennsylvania. exhibited the Serfass Conductance Bridge with titration assembly and also mounted specimens detailing the development of microchemical apparatus. This included the development of the Pregl type micro absorption tubes for carbon hydrogen determination from the original flame sealed type to the tube of standardized dimensions recommended by the Standardization Committee on Microchemical Apparatus of the American Chemical Society. In illustration of apparatus items used for the technique of magnetic stirring, Arthur H. Thomas showed the stirring beads of *Linderstrøm-Lang* and *Holter*, various modifications of glass and plastic-covered bar magnets, and a stirring magnet completely sealed in chemically resistant Teflon (poly tetrafluoro-ethylene).

Precision Scientific Company, Chicago, Illinois, displayed the Precision-Dow Dual Recording Titrometer. This instrument is a complete automatic recording titrometer which has two sets of ranges which will allow the determinations to be run on a p_H basis or a millivolt basis. Thus, the unit is suitable for oxidation-reduction titrations as well as normal acid-base work. It is especially useful in the petroleum industry for titrating sulfur compounds in gasolines, kerosenes, gas oils, fuel oils, and diesel fuels.

C. A. Brinkmann and Co., Great Neck, Long Island, New York. showed several models of English and German micro balances.

E. Machlett and Son, New York City, demonstrated a New Electrothermal Heating Tape for versatile heating applications requiring flexibility of movement. An inexpensive Firelator furnace temperature-controller with a thermocouple was effectively controlling the heating tape set-up. A flashing-light p_H meter was demonstrated for the first time. The exact end point of a titration is indicated by this Coleman meter when the neon glass lamp just begins to flicker. The Todd Spectranal attracted great interest because it qualitatively detects 36 elements by the use of a unique glass excitation chamber mounted

in front of the entrance slit. Neoprene matting and a novel water filter and purifier were also included in the Machlett exhibit.

At the first session of the symposium, *Herbert K. Alber*, Arthur H. Thomas Co., gave a lecture entitled "From Gadgets to Instruments in Microchemistry". In his talk he discussed water baths, stirring by electromagnetic forces, micro combustion equipment with and without automatic features, micro melting point determinations on hot stages, and other instruments used in the daily routine work of the microanalyst. *Charles E. White*, University of Maryland, Baltimore, Maryland, gave a talk on Inorganic Fluorometric Analysis. He illustrated some of the techniques of fluorometric analysis by discussion of methods for the determination of various elements. He also discussed some of the fluorometric reagents which he has developed for aluminum, beryllium, boron, lithium, thorium, zinc, and zirconium. At the end of this session motion pictures taken at the first International Microchemical Congress in 1950 at Graz, Austria, were shown.

At the second session, *Clark E. Bricker*, Princeton University, Princeton, New Jersey, discussed the advantages, disadvantages, probable accuracy, and precision of photometric titrations and compared these titrations with some of the other instrumental methods used in determining microquantities. *Robert C. Gore*, American Cyanamid Co., Stamford, Connecticut, presented a paper reviewing infrared adsorption in relation to microchemistry.

At the third session *Albert E. Sobel*, Jewish Hospital of Brooklyn, Brooklyn, New York, said that clinical chemistry has developed to a point where as many as fifteen to thirty quantitative determinations are desirable on a single specimen of blood as an aid in the diagnosis and treatment of a patient. He then showed how the introduction of quantitative ultramicrochemistry in clinical laboratories permits such multiple determinations on relatively small amounts of blood. The final paper of the symposium was given by *Roger Gilmont*, Emil Greiner Co., New York City, in which he presented details of the construction and use of an ultrafine high-presision microburet permitting reading to approximately 10^{-9} ml or 10^3 cubic microns.

L. K. Yanowski, Fordham University, New York.

Segundas Sesiones Microquímicas Argentinas.

El microanálisis ha encontrado amplia aplicación en Argentina, y es así como algunas instituciones lo han adoptado desde hace años. En las cinco Universidades Argentinas se practica y es digno de mención el Instituto de Investigaciones Microquímicas (Rosario), fundado por el maestro *Ardoíno Martini* que tantas contribuciones nos legara.

Las Segundas Sesiones fueron presididas por el Profesor Dr. *S. A. Celsi*, disertando en el acto inaugural el Profesor Dr. *J. B. Niederl* (ex-profesor de la Universidad de Nueva York), sobre «Veinticinco años de experiencia en microquímica en los Estados Unidos», quien fué presentado por el Consejero de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires, Profesor Dr. *J. A. Sozzi*.

El disertante describió en primer término la organización de un curso de microanálisis cuantitativo orgánico (Chem. 202) dentro del programa de trabajo de una escuela para graduados de una Universidad Norteamericana (New York University). Fué señalado que el trabajo se desarrolló en seis horas semanales. Por lo tanto, en el término de 14 semanas se pudo realizar la enseñanza del método de pesada en microescala, luego la determinación de C é H y la evaluación de N por los métodos de Dumas y Kjeldahl. El máximo de estudiantes permitido en ese curso fué de 12 alumnos.

Durante la conferencia se anunció que una balanza analítica común que tuviera una sensibilidad y precisión de 10 microgramos es absolutamente satisfactoria, particularmente teniendo en cuenta que los métodos microanalíticos de *Pregl* se realizan usando muestras entre 1 y 20 miligramos, recomendándose, asimismo, tomar muestras entre 8 y 9 miligramos. El disertante, demostró claramente que el curso es una excelente ayuda en investigaciones de síntesis orgánica, teniendo en cuenta que una gran cantidad de substancias obtenidas en las investigaciones pueden ser cuidadosamente analizadas en dicho lapso sin gasto extra para la universidad o para los estudiantes.

También se discutieron las conexiones con la industria, recalcando el hecho de que se deben considerar especialmente las aptitudes psicológicas del futuro microanalizador, citándose ejemplos en los cuales los analizadores de la industria fueron entrenados, así como los estudiantes del curso obtenían puestos técnicos.

Otro aspecto de la conferencia versó sobre problemas de criminología, dándose ejemplos en los cuales la simple micro-determinación del equivalente de neutralización fué decisiva en el curso de una investigación policial. En un caso expuesto, una pequeña mancha de aceite lubricante (no hidrolizable) sobre un billete de banco condujo a la búsqueda del asesino. Otra mancha sobre un periódico llevó por el mismo proceso a la búsqueda de un explosivo (hidrolizable) tal como la nitroglicerina; en ambos casos, posteriores investigaciones policiales llevaron a la verificación de estos hallazgos.

También se citó una falta analítica. El producto de condensación del acetaldehido con el resorcinol fué descripto muchas veces en la literatura científica dándose cada vez diferentes fórmulas. Las investigaciones realizadas en el laboratorio del disertante condujeron, también,

a resultados dispares aún después de una cuidadosa desecación de la substancia. Finalmente la esterificación del producto cristalino de la condensación con varios anhidridos de ácidos orgánicos llevaron a resultados analíticos uniformes. Los productos de condensación originales retenían de 8 a 20% de agua de cristalización, dependiendo del modo como se formaban las últimas trazas que no podían ser eliminadas por desecación.

Es evidente que, dentro de una comunidad altamente industrializada, un curso de microanálisis cuantitativo orgánico no sólo es deseable para el entrenamiento de un químico orgánico, sino que constituye un poderoso auxiliar de la investigación.

Sección Microanálisis Orgánico y Biológico. Presidido por el Profesor Dr. *Agustín D. Marenzi*, considerándose los siguientes trabajos:

1. *A. D. Marenzi* y *C. Gómez:* «Determinación colorimétrica de la arginina.»
2. *A. Marenzi* y *C. Gómez:* «Observaciones sobre la determinación de la histidina por la reacción de *Pauly*.»
3. *A. Marenzi* y *E. Braegger:* «Microdeterminación colorimétrica del aldehido fórmico por la reacción de *Schryber*.»
4. A. *Marenzi* y *E. Braegger:* «Determinación de los 17 cetoesteroides neutros en la orina.»
5. *A. Marenzi* y *C. Gómez:* «Determinación colorimétrica de la lisina.»
6. *B. Berisso:* «Sobre una nueva reacción microquímica de la colina.»
7. *B. Berisso:* «Investigación microquímica del ácido oxálico en el líquido cefaloraquídeo.»
8. *B. Berinzaghi:* «Microdeterminación del grupo nitrilo en nitrilos acilados de los ácidos aldónicos.»
9. *V. Deulofeu, B. Noir* y *E. Hug:* «Los glucósidos flavonólicos del ombú, caracterización de rutina y caracterización de rutinosa en el ombuósido.»
10. *L. S. R. de Agatiello:* «Identificación microquímica del mercurio en medicamentos.»
11. *Omar Guagnini* y *E. E. Vonesch:* «Estudios sobre ácidos hidroxámicos. I. Reconocimiento y microvalorización de hidroxilamina mediante el ácido formohidroxámico.»
12. *E. Vonesch, O. Guagnini* y *Saúl Guagnini:* «Estudios sobre ácidos hidroxámicos. II. Microdeterminación colorimétrica del catión Hierro.
13. *P. Luís:* «Estudio de algunos bromoauratos de alcaloides microcristalinos.»

Los trabajos presentados se refirieron a la identificación microanalítica de aminoácidos, alcaloides, esteroides, flavonas o substancias específicas como formaldehido y ácido oxálico.

Fueron presentados el uso de substancias tales como el ácido hidroxámico, para la identificación de iones inorgánicos, así como substancias orgánicas oxigenadas tales como aldehidas.

Una interesante aplicación del método de *Pregl* para la filtración de haluros de plata en la microdeterminación de ciertos nitrilos con el propósito de la identificación de su estructura.

La determinación cromatográfica de ciertas flavonas fenólicas llevaron a resultados concluyentes y a elucidaciones de interés general.

Sección Microanálisis Inorgánico: Presidido por el profesor Dr. *Luís Mennucci*, considerándose los signientes trabajos:

1. *L. A. Menucci:* «Identificación del talio.»
2. *L. Mennucci* y *H. Fasano:* «Nueva reacción para la identificación de antimonio.»
3. *H. Fasano:* «Separación e identificación del arsénico, mercurio, antimonio y estaño.»
4. *J. C. Baró Graf:* «Sobre nuevas reacciónes microquímicas del bario y del paladio.»
5. *F. Zelada:* «Identificación microanalítica de los cationes de los grupos 3° y 4°.»
6. *N. Waldbott von Bassenheim:* «Semimicrodeterminación de niquel con nioxima.»
7. *R. E. Longo:* «Hidroxiderivados del trifenilmetano como indicadores de toriometría.»
8. *M. C. Alvarez Querol* y *C. Wilson:* «Microesquema de cationes sin uso de sulfhídrico.»
9. *M. C. Alvarez Querol:* «Microdeterminación de hierro.»
10. *M. C. Alvarez Querol:* «Microdeterminación de aluminio.»

Los trabajos presentados en esta Sección se refieren a la identificación microanalítica, separación y procedimientos sistemáticos de los cationes del 3er y 4° grupo, en particular la identificación de Tl, Sb, As, Hg, Sn, Pd, Ba, Ni, Th, Fe y Al.

En la discusión se debatió sobre reacciones inorgánicas y orgánicas estableciendo nuevos límites de identificación.

Muchas aplicaciones especiales, tales como la identificación del Tl, Fe y Al, recibieron una viva respuesta; así como el esquema para la identificación de algunos cationes sin el uso del sulfuro de hidrógeno, recibieron aprobación general.

Sección Microquímica Especial y Ultramicroanálisis. Presidida por el profesor Dr. *D. Vucetich*, considerándose los siguientes trabajos:

1. *A. Novelli* e *I. Guerrero:* «Reconocimiento de los alcaloides comunes del opio por cromatografía.»
2. *R. O. Bach:* «Una contribución a la cromatografía de gases.»

3. *I. D. Amézola:* «Alúmina activada; preparación y propiedades.»
4. *J. A. Catoggio:* «Análisis cromatográfico.»
5. *M. A. Roselli:* «Determinaciones polarográficas del cobalto y níquel en aleaciones.»
6. *R. Manuele:* «Consideraciones sobre la polarografía.»
7. *R. Manuele* y *P. Sosa:* «Microdeterminación del plomo y del cadmio en el litopón por polarografía.»

La cromatografía y polarografía en microescala fueron los temás más debatidos en esta Sección. No sólo se discutió sobre la cromatografía en general, sino sobre las aplicaciones de la polarografía a la determinación de Ni, Co, Pb, y Cd, y dándose técnicas para las cromatográfias para alcaloides y gases.

Fueron mostrados cromatogramas en papel para alcaloides comunes. de general interés, mientras que la determinación cromatográfica de gases, tales como CO_2 y SO_2, dieron nuevas bases para futuras aplicaciones.

Sección Temas Microquímicos, Misceláneas. Presidida por el Ingeniero *J. C. Baró Graf*, considerándose los siguientes trabajos:

1. *M. Valentinuzzi:* «Medida de la susceptibilidad magnética en líquidos y sus aplicaciones químicas.»
2. *J. B. De Nardo:* «La microquímica como método económico de análisis.»
3. *N. Waldbott v. Bassenheim:* «Unidades en microanálisis.»
4. *A. Moscoso Boedo:* «Fluorometría o análisis fluorométrico.»
5. *P. West* y *L. Granatelli:* «Método de fusión para la identificación de iones inorgánicos.»
6. *R. Sanguinetti:* «Cursos especiales de microanálisis aplicados a la industria y en las Escuelas Industriales.»

Se presentaron en esta Sección una variedad de tópicos, métodos mejorados para el análisis de substancias inorgánicas por fusión; análisis fluorescimétrico, suceptibilidades magnéticas de algunas soluciones, así como problemas de nomenclatura en microanálisis.

Fué demostrada la economía que representa la aplicación de los semi-micro y micro métodos sobre los esquemas convencionales de la macro-escala.

Zusammenfassung.

Am 10., 11. und 13. Oktober 1952 wurde in Buenos Aires die „Zweite mikrochemische Session" abgehalten. Von den vier Sektionen umfaßte die Abteilung für organische und biologische Mikroanalyse 13 Vorträge, die Abteilung für anorganische Mikroanalyse 10 Vorträge, die Sektion für angewandte Mikrochemie und Ultramikroanalyse 7 Vorträge, während in der Abteilung für allgemeine Mikrochemie 6 Vorträge abgehalten wurden. Die Veranstaltung war gut besucht. Fakultätsmitglieder aller fünf Universitäten Argentiniens beteiligten sich an den Vorträgen, die allgemeines Interesse erweckten und gleichzeitig ein lebendiges Zeugnis ablegen vom gegenwärtigen hohen Stand der mikrochemischen Forschung in Argentinien.

Summary.

On October 10, 11 and 13, 1952, there took place in Buenos Aires, the Second Session in microchemistry in Argentina. There were four sections. In the section of organic and biological micro-analysis 13 papers were presented, in the section of inorganic micro-analysis 10 papers were given, while in the section of applied microchemistry and ultramicroanalysis 7 papers were delivered and in the section of general aspects of microchemistry 6 papers were offered. The Meeting was well attended and faculty members of all the five universities in Argentina participated actively in the presentation of the papers, which aroused general interest and are a living example of the present day advances in the field of micro-chemistry in Argentina.

Résumé.

A Buenos Aires, les 10, 11 et 13 Octobre 1952, a eu lieu la deuxième Session en micro-chimie en Argentine. Il y avait quatre sections. La section de micro-analyse organique et biologique comprenait 13 discours, la section de micro-analyse inorganique 10 discours, tandis que dans la section de la microchimique appliquée et ultra-microanalyse se présentèrent 7 discours et finalement dans la section générale couvrant tous les aspects de la microchimie 6 discours. La Réunion était très frequentée et membres des facultés de toutes les cinq universités argentines participèrent dans les discours, qui non seulement éveillaient un vif intérêt général, mais qui étaient aussi un exemple du progrès et du haut niveau actuel des investigations dans le sphère de microchimie en Argentine.

S. A. Celsi y *J. A. Sozzi*,
Facultad de Ciencias Médicas, Buenos Aires.

Society of Public Analysts and Other Analytical Chemists.

Ordinary Meeting of the Society.

An Ordinary Meeting of the Society was held at 7 p. m. on Wednesday, December 3rd, 1952, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London W. 1. Dr. *J. R. Nicholls*, President of the Society, was in the Chair, and a Lecture on "Industrial Fluorosis" was given by *H. H. Green*, O. B. E., D. Sc., and was illustrated by a film, lantern slides and exhibits.

Synopsis of Lecture.

The significance of emission of fluorine compounds into the atmosphere by industrial undertakings in relation to the health of man and animals, and in relation to damage to vegetation, was discussed, with particular reference to agricultural and social implications in relation to industrial interests.

At least 28 industrial occupations of man have been associated with fluorine hazards, but many of these are within towns and do not concern farm stock unless the factories are in the vicinity of farm land on to which particulate matter can be carried by wind and deposited on pastures. Of the large industries affecting local agriculture those discussed included aluminium production, brick-works, enamel or colour factories, the iron and steel industry, and collieries.

Analytical techniques for fluorine in various materials were referred to, together with methods for assessing fluorine hazards and the need for further research into control measures.

Ordinary Meeting of the Scottish Section.

An Ordinary Meeting of the Scottish Section was held at 7.15 p. m. on Thursday, December 11th, 1952, in the Biochemistry Department, The University, Glasgow, W. 2, when a Lecture on "Electrophoresis", was given by Dr. *G. T. Mills* (Department of Biochemistry, University of Glasgow). Mr. *H. C. Moir* was in the Chair and sixteen members and friends were present. The lecture was followed by a visit to the Electrophoresis Laboratory, where apparatus and equipment for the determination of moving boundary, optical method, and zonal electrophoresis on filter paper was inspected and discussed.

Synopsis of Lecture.

The technique of electrophoresis is the study of the migration of charged particles in solution under the influence of an applied potential. The introduction of the Tiselius optical method for the study of boundary electrophoresis in 1937 opened up new fields of study, which have been further expanded by the introduction of zone electrophoresis on filter paper. The lecture covered the main theoretical and practical features of these methods.

Physical Methods Group.

The *Eighth Annual General Meeting* of the Physical Methods Group of the Society of Public Analysts and Other Analytical Chemists was held at 6 p. m. on Tuesday, November 25th, 1952, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London W. 1.

Dr. *J. Haslam* occupied the Chair and there were 41 other members present.

The Annual General Meeting was followed at 6.30 p. m. by the Thirty-Eighth Ordinary Meeting of the Group. The Chair was taken by Dr. *J. Haslam* and about 62 members and visitors were present.

The following papers on "Forensic Science" were presented and discussed:

"The Application of Some Physical Methods in Forensic Science with Particular Reference to the Examination of Materials Relating to Criminal Investigation", by *J. B. Firth*, D. Sc., F. R. I. C., M. I. Chem. E.

The investigator is continually meeting problems of identification of miscellaneous specimens. Among these are fragments of glass and precious stones for which density, hardness and refractive index all play an important part. Certain solids are recognised by melting-point, and liquids, e. g., mixed petroleum products, by fractional distillation or boilingpoint determination. Ultra-violet fluorescence is employed for the examination of stones, while spectrographic analysis is an invaluable tool for the identification of minute specimens of paint, glass, etc. Carbon monoxide can be estimated by spectral absorption in the visible region, and certain alkaloids by their ultra-violet absorption. Other methods involve colorimetry or nephelometry or chromatographic examination. In most cases several methods may be applied to one microscopic specimen to gain as much information as possible.

"The Examination of Questioned Documents", by *J. A. C. McClelland*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C.

Examination of documents which may have been mishandled in any way such as to convey an impression different from that originally intended is carried out. This involves such processes as the reproduction of erased writing, the detection and presentation of added or altered particulars or of

markings which have been faintly imprinted on documents. Other articles which may bear obliterated or altered impressions may also require examination.

The presence of materials foreign to the article under examination may also give valuable information as to the nature of any mistreatment which may have taken place.

The methods employed for this work involve the use of various type of illumination which are obtained by means of light filters or special types of lamps. Thus for working in the infra-red region, a suitable filter and photographic plate is used whilst the appropriate colour filter is needed for the reproduction of marks on a coloured object. For working in the ultra-violet region a suitable lamp is employed.

The examination of typescript will usually reveal characteristics which should enable the identification of a certain machine; when this is possible any documents typed on one specific instrument can usually be considered to emanate from the same source.

Any evidence which may be obtained as a result of these investigations is reproduced in a manner suitable for presentation as evidence in a court of law.

Österreichische Gesellschaft für Mikrochemie im Verein Österreichischer Chemiker.

Über die „*qualitative Mikroanalyse im Hochschulunterricht*" sprach gelegentlich einer am 21. März 1952 in Wien stattgefundenen Sitzung der Gesellschaft *Friedrich Hecht*, II. Chemisches Universitätslaboratorium Wien. Der Vortragende zeigte die Anwendung sowohl der Filterstäbchen- als auch der Spitzröhrchentechnik (mit Zentrifugieren) in der qualitativen Mikroanalyse. Schon im ersten und zweiten Semester sollen die Studierenden an richtige Schätzung und Dosierung sehr kleiner Substanzmengen und sorgfältiges Arbeiten mit ihnen gewöhnt werden, wobei der gewählte chemische Analysengang selbst erst in zweiter Linie von Bedeutung ist. Daher ist es grundsätzlich möglich, ähnlich dem Makroanalysengang vorzugehen. Auch eine papierchromatographische Trennung der Kupfergruppe wurde vorgeführt.

In einer am 25. April 1952 in Graz abgehaltenen wissenschaftlichen Sitzung der Gesellschaft berichtete *Franz X. Mayer*, Institut für gerichtliche Medizin der Universität Wien, über die *Anwendung der Spektralanalyse in der forensischen Chemie*. Nach einem Überblick über das vielseitige Arbeitsgebiet des forensisch tätigen Chemikers, das sich neben der analytischen Behandlung rein medizinisch-chemischer Fragen, vor allem die Toxikologie betreffend, auch auf die in der naturwissenschaftlichen Kriminalistik unter dem Begriff „Spurenkunde" zusammengefaßte Arbeitsrichtung erstreckt, wurde eingehend die Bedeutung sowohl der Emissions- als auch der Absorptionsspektralanalyse für den Nachweis und die Untersuchung von Spuren erörtert. Bei der Emissionsspektralanalyse liegt die Erfassungsgrenze bei rund 0,001%. Es lassen sich unter entsprechenden Bedingungen bei einem Substanzverbrauch von Bruch-

teilen von Milligrammen Mengen eines Elementes in der Größenordnung von 0,01 γ nachweisen. Absorptionsspektralanalytisch lassen sich noch Stoffe bestimmen, die in der Größenordnung von wenigen Milligrammen bis zu Bruchteilen davon vorliegen. Der mechanische Abreißbogen nach *Gerlach* und der hochfrequent gezündete Wechselstrombogen nach *Pfeilsticker* wurden eingehend besprochen. Der Vorteil der Anwendung emissionsspektralanalytischer Methoden bei der Klärung von Auslageneinbrüchen und Kasseneinbrüchen durch die Identifizierung von Glassplittern bzw. Untersuchung des Kleiderstaubes auf Bestandteile der erbrochenen Kassen, zur Klärung von Verkehrsunfällen durch die Untersuchung von Farbspuren, bei der Untersuchung von Schußverletzungen an skelettierten Leichenteilen durch den Nachweis von Blei, zum Nachweis von Metallgiften, wie z. B. Thallium, Blei, Quecksilber und Zink, wurden hervorgehoben. Die Methoden zur quantitativen Erfassung von Spuren dieser Gifte wurden beschrieben. Schließlich wurde auf die Anwendung der Absorptionsspektralanalyse zur Klärung von Vergiftungen mit aromatischen Substanzen, mit Alkaloiden und vielen synthetisch-organischen Giftstoffen hingewiesen. Besonders wurde hervorgehoben, daß sich mit Hilfe dieses Verfahrens eine Verwechslung der Anästhesierungsmittel Novocain (Procain) und Percain leicht und überzeugend klären läßt. Auf den Vorteil der Spektralphotometer nach dem *Beckman*schen System wurde hingewiesen, da mit solchen Geräten die Erfassungsgrenze bei der Absorptionsspektralanalyse gegenüber den photographischen Methoden um wenigstens eine Zehnerpotenz herabgesetzt werden kann.

Am 20. Juni 1952 berichtete in einer in Graz abgehaltenen Versammlung der Gesellschaft *Friedrich Hecht* zunächst zusammenfassend über die in den letzten Jahren ausgearbeiteten Verfahren verschiedener Autoren zur Mikrobestimmung des Galliums, insbesondere zur fluorometrischen Bestimmung organischer Galliumkomplexe. Anschließend wurden die Geochemie des Galliums und damit zusammenhängende eigene Untersuchungen des Vortragenden behandelt. An gleicher Stelle berichtete *K. L. Bradacs*, II. Chemisches Universitätslaboratorium Wien, über eine neue Germaniummikrobestimmung mit Hilfe des radioaktiven Isotops ^{71}Ge. Hierüber erscheint noch eine ausführliche Mitteilung in dieser Zeitschrift.

Anläßlich der Generalversammlung des Vereins Österreichischer Chemiker in Graz hielt die Österreichische Gesellschaft für Mikrochemie eine eigene wissenschaftliche Sitzung am 10. Oktober 1952 ab. *K. Scharrer*, Agrikulturchemisches Institut der Justus-Liebig-Hochschule Gießen, erstattete zunächst ein umfassendes Referat über *Spurenelemente*. Ein Bericht darüber erscheint in dem nächsten Heft dieser Zeitschrift.

Im folgenden Vortrag befaßte sich *Hans Spitzy*, Paracelsus-Institut, Bad Hall, Oberösterreich, mit der *mikrochemischen Bestimmung des Jod-*

gehaltes im Augenkammerwasser und deren erweiterter Anwendung mit Hilfe eines Isotops. Die Bedeutung des Jods als Pharmakon in der Augenheilkunde sowie die bisherige Unsicherheit der Aussagen über den quantitativen Gehalt dieses Elementes im Kammerwasser bei Jodtherapie führten zu einer Jodbestimmung in der Vorderkammerflüssigkeit der Augen, die einerseits den sehr kleinen Probemengen (max. 0,3 ml), anderseits den sehr geringen Jodgehalten Rechnung trägt. Das Verfahren beruht auf dem Prinzip der alkalischen Veraschung. Der Unsicherheit bei der maßanalytischen Bestimmung von absoluten Jodgehalten unter 1 γ wird durch Hinzugabe kleinster bekannter Jodmengen begegnet. Der Anwendung dieses Verfahrens sind Grenzen gesetzt. Jedoch können sich jenseits dieser Grenzen auf Grund des Vorhandenseins auch kleinster Jodspuren noch physiologisch durchaus bedeutsame Vorgänge abspielen. Die Erfassung dieser Jodspuren erfolgt ihrer relativen Größe nach durch Anwendung des Jodisotopes ^{131}J und dessen Bestimmung mit Hilfe eines *Geiger-Müller*-Zählers. Durch Kombination der mikrochemischen Arbeitsmethode und der Isotopentechnik kann man die Anwendung der ersteren erweitern und Jodspuren in ihrer absoluten Größe bestimmen, deren Erfaßbarkeit auf chemischem Wege allein bisher nicht möglich ist. So wurde z. B. die Jodaufnahme in der Vorderkammer nach Besprühen der Hornhaut mit Jodquellwasser in ihrer zeitlichen Abhängigkeit studiert (*Hagmüller, Hellauer* und *Spitzy*, Arch. Ophthalmologie, im Druck).

Anschließend berichtete *F. Miller*, Deutschlandsberg, Steiermark, über die *Verwendung disubstituierter Dithiocarbamate in der Mikroanalyse* [s. Mikrochem. **40**, 63 (1952)].

Neue Mikrotitrationen mit Äthylendiamintetraessigsäure (Komplexon) schilderte *Hermann Flaschka*, Graz-Gösting. Es wurde über die Bestimmung von Natrium berichtet [Mikrochem. **39**, 391 (1952)], das man auch in sehr geringen Mengen nach Fällung als Zinktripelsalz über das im Niederschlag vorhandene Zink komplexometrisch titrieren kann. Zur direkten Titration von Blei [Mikrochem. **39**, 315 (1952)] versetzt man die Probelösung mit Weinsäure, Ammoniak und Eriochromschwarz T und titriert bis zum Umschlag Violett-Blau. Anwesendes Zink, Cadmium, Kupfer, Quecksilber, Nickel, Kobalt, kleinere Mengen Eisen (nach Reduktion) und Mangan können mit Cyan maskiert werden. Silber [Mikrochem. **40**, 21 (1952)] verdrängt aus Kaliumtetracyanonickelat-(2) das Nickel, das gegen Murexid titriert werden kann. Über diesen Weg lassen sich Silber und auch die Halogene nach Fällung als Silberhalogenid komplexometrisch bestimmen. Diese Art der Halogentitration kann vorteilhaft die gravimetrische Methode nach Bombenaufschlüssen von organischen Substanzen ersetzen.

Die von *H. Ballczo*, II. Chemisches Universitätslaboratorium Wien, beschriebene *Methodik der genauen mikromaßanalytischen Bestimmung*

kleinster Mengen von Erdalkali- und Alkaliionen beruht auf der Möglichkeit, kleine Mengen fast aller ihrer Salze durch vorsichtiges Schmelzen und kurzes darauffolgendes Glühen mit Borsäure im Platintiegel in Metaborate umzuwandeln. Diese werden direkt bzw. nach Auflösen in etwa 0,01-n Salzsäure titriert. Die schwer flüchtige Borsäure vertreibt alle anderen Säuren mit Ausnahme der noch schwerer flüchtigen Kieselsäure. Lithiumchlorid führt man vor der Umwandlung vorteilhafterweise zunächst in das Sulfat über, um Verluste zu vermeiden [Mikrochem. **35**, 178 (1950) und **39**, 152 (1952)]. Die Verwendung sehr verdünnter Maßlösungen (0,002- bzw. 0,001-n) erfordert zur Vermeidung von Titrierfehlern eine besondere Methodik (Z. analyt. Chem. **134**, 321 (1951)]. Sie beruht im wesentlichen auf der Bildung eines Differenzwertes aus zwei unter gleichen Bedingungen durchgeführten Titrationen, deren Genauigkeit bei Abweichungen von der Normaltemperatur durch eine einfache Korrektur des Faktors der Maßlösungen wesentlich erhöht und gesichert werden konnte. Die Genauigkeit der quantitativen Erfassung dieses der Mikrogravimetrie nicht mehr exakt zugänglichen Mengenbereiches konnte mit Hilfe dieser verfeinerten Methodik wesentlich gesteigert werden.

Gerhard Kainz, II. Chemisches Universitätslaboratorium Wien, berichtete über ein Verfahren zur *gravimetrischen C-H-Bestimmung mit Einwaagen von 1 mg*, das serienmäßig durchführbar ist. Die früher [Mikrochem. **39**, 166 (1952)] angegebene Methodik wurde verfeinert. Die Rohrfüllung besteht aus einem Kupferoxyd-Silbergemisch und metallischem Kupfer, letzteres als Absorptionsmittel für Stickoxyde. Eine sehr aktive Kupferschichte, die für 30 Analysen ausreicht, erübrigt dis bisher verwendete Zweigleitung. Die Absorptionsgefäße wurden verkürzt und mit Schliffen versehen. Bei Verwendung einer üblichen Mikrowaage konnten Einwaagen von 0,9 mg mit einer Fehlergrenze von $\pm$ 0,4% C und H (absolut) analysiert werden.

Die 6. ordentliche Hauptversammlung der Österreichischen Gesellschaft für Mikrochemie fand am 21. November 1952 in Graz statt. Zu Beginn der Geschäftssitzung berichtete der Präsident Prof. Dr. *H. Lieb* über die Teilnahme der Gesellschaft an der Achema X in Frankfurt a. M. sowie am Internationalen Kongreß für Analytische Chemie in Oxford. Der Mitgliederstand der Gesellschaft ist gegenüber dem Vorjahr um 9% gestiegen. Für die nächsten zwei Geschäftsjahre wurde Prof. Dr. *H. Lieb* zum Präsidenten wiedergewählt. Dem Vorstande gehören überdies folgende Mitglieder an: Prof. Dr.-Ing. *G. Gorbach*, Graz, und Prof. Dr. *M. K. Zacherl*, Wien, als Vizepräsidenten, Dr.-Ing. *H. Spitzy*, Bad Hall, als Sekretär, Dr.-Ing. *H. Winkler*, Graz, als Kassenwart, Dr. *W. Bacher*, Trieben, Prof. Dr. *R. Fischer*, Graz, Prof. Dr. *F. Hecht*, Wien, Prof. Dr. *G. Jantsch*, Graz, Dozent Dr. *W. Leithe*, Linz, Dozent Dr.-Ing. *H. Malissa*, Düsseldorf, Dr. *F. Pilch*, Graz, Dr.-Ing. *W. Schöniger*, Graz, Prof. Dr. *E. Schwarz-Bergkampf*, Leoben.

In der darauffolgenden wissenschaftlichen Sitzung hielt *T. Schönfeld*, I. Chemisches Universitätslaboratorium Wien, einen Vortrag über *die*

Verwendung von Radioelementen in der Mikroanalyse. Deren Bedeutung ergibt sich vor allem aus der großen Nachweisempfindlichkeit. Ein wesentlicher Gesichtspunkt ist auch die Einfachheit und Schnelligkeit der Bestimmung durch Aktivitätsmessung, die manchmal langwierige chemische Verfahren ersetzen kann. Radioisotope fast aller Elemente sind bekannt. Größere Mengen werden vor allem durch Neutronenbestrahlung in den Urankernreaktoren erzeugt. Auch österreichische Laboratorien können die auf diesem Weg herstellbaren Radioelemente beziehen. Die Kosten sind gering und auch die erforderlichen Meßgeräte durchaus erschwinglich. Besondere Bedeutung haben die Radioelemente für Spezialuntersuchungen, z. B. für die Überprüfung mikroanalytischer Verfahren durch Untersuchung von Trennungen, Bestimmung von Verlusten durch Adsorption, Mitfällung oder beim Auswaschen von Niederschlägen usw. Bestimmend für die Nachweisempfindlichkeit, die mit Radioindikatoren erzielt werden kann, ist in erster Linie die Halbwertszeit des Radioelementes und das Verhältnis der Zahl der aktiven zur Zahl der inaktiven Atome des betrachteten Elementes. Die mit anderen Methoden erzielbaren Erfassungsgrenzen können mit Hilfe der Radioisotopen bei vielen Elementen bedeutend unterschritten werden. Mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode gelingt die Bestimmung der Ausbeute einer beliebigen Abtrennung. Diese Methode eignet sich sowohl für Spezialprobleme als auch zur Verbesserung der Genauigkeit von ständig verwendeten Analysenmethoden. Besonders empfindliche Bestimmungen sind durch Aktivierungsanalyse möglich. Dabei wird die Analysenprobe mit Neutronen bestrahlt. Die Strahlungsintensitäten der erzeugten Radioelemente sind dann den Mengen der Ausgangselemente der Kernreaktionen in der Probe proportional. Analysenproben werden von den Atomenergielaboratorien zur Bestrahlung übernommen, so daß auch dieses Verfahren für die österreichische Forschung Interesse gewinnt.

Die *Kommission für die Standardisierung mikrochemischer Geräte und Apparate* in der Österreichischen Gesellschaft für Mikrochemie nahm durch Aussendung von Fragebogen den Kontakt mit Mikrochemikern verschiedener europäischer Länder (Schweiz, Schweden, Deutschland, Norwegen, Spanien und Niederlande) auf. Die Beantwortung der Fragen diente der Gewinnung eines Überblickes über die zur Zeit verwendeten Methoden, Geräte und Apparate für die mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes. Die vorläufige Auswertung ergibt, daß 69% der beteiligten Laboratorien die Original-*Pregl*-Methode, 5% eine modifizierte *Pregl*-Methode, 5% die Methode von *Friedrich*, 16% die Methode von *Kirsten* und 5% die Methode von *Niederl* verwenden. Ein endgültiger Bericht über die Auswertung dieser Aktion wird zu gegebener Zeit in dieser Zeitschrift vorgelegt werden. Bei der Subkommission für die Standardisierung mikrochemischer Geräte in der Internationalen Union für Chemie wurde die Festsetzung von fünf Testsubstanzen zur Überprüfung der verschiedenen Verfahren zur C-H-Bestimmung beantragt.

H. Spitzy, Sekretär, Bad Hall, Oberösterr.

Buchbesprechungen.

Handbuch der Präparativen Anorganischen Chemie. Herausgegeben von *G. Brauer*. 3., 4., 5. und 6. Lieferung. Seiten 321 bis 960; Abbildungen 218 bis 262. Lieferung 3: 1951; Lieferungen 4—6: 1952. Stuttgart: F. Enke. Je Lieferung DM 21,—.

Was über dieses neue Handbuch schon bei der Besprechung der beiden ersten Lieferungen [Mikrochem. **39**, 225 (1952)] gesagt worden ist, gilt in analoger Weise auch für die nunmehr erschienenen vier folgenden Lieferungen. Darin werden von berufenen Autoren die Elemente (und ihre Verbindungen) Se, Te, N, P, As, Sb, Bi, C, Si, Ge, Sn, Pb, B, Al, Ga, In, Tl, die Erdalkalimetalle Be, Mg, Ca, Sr, Ba, die Alkalimetalle Li, Na, K, Rb, Cs, ferner Cu, Ag, Au, Zn, Cd, Hg, Sc, Y, seltene Erdmetalle, Ti, Zr, Hf, Th, V besprochen. Alle Vorschriften sind straff gefaßt und vielfach durch gute Abbildungen erläutert. Zweifellos kann der Fachmann danach einwandfrei arbeiten.

Mit diesen bisher vorliegenden sechs Lieferungen sind 960 Seiten des Handbuches erreicht. Nach der Ankündigung sind noch zwei Lieferungen ausständig, doch kann schon jetzt das Gesamtwerk als äußerst nützliche Bereicherung der anorganisch-präparativen Literatur bezeichnet werden.

F. Hecht-Wien.

Franz X. Mayer und *Alfred Luszczak*: **Absorptions-Spektralanalyse.** Mit 74 Abb., XIV, 238 S. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1951. Geb. DM 14,—.

Wie die Verfasser im Vorwort erklären, ist das Buch als Einführung in die Absorptions-Spektralanalyse gedacht und für alle berechnet, die die physikalisch-chemischen Grundlagen dieser Analysenmethode näher kennen lernen und praktisch anwenden wollen.

Der Stoff wird daher sinngemäß in drei Hauptteilen behandelt. Der erste bringt die theoretischen Grundlagen der Absorptionsspektroskopie besonders im Hinblick auf die qualitative und quantitative Analyse. Ein besonderer Vorzug dieses Abschnittes ist das Eingehen auf schwierige analytische Probleme und deren Lösung. So vor allem die Berechnung der Komponenten (bis zu fünf) in Mehrstoffgemischen und die Durchführung der Analyse bei Anwesenheit eines unbekannten störenden Stoffes. Die klare und nützliche Behandlung der schwierigen Probleme findet sich, soweit dem Ref. bekannt ist, in keinem der klassischen Bücher über Absorptions-Spektralanalyse.

Der zweite Teil befaßt sich mit der praktischen Durchführung der Analyse, was Apparate und Methoden betrifft. Spektrographen, Spektralphotometer, Küvetten und Lösungsmittel für die zu analysierenden Substanzen sowie das photographische Aufnahmematerial werden besprochen. Es folgt eine Diskussion über die üblichen unbekannten und objektiven Meßmethoden. Von letzteren wird nur die photographische ausführlich besprochen. Auf die gegenwärtig so viel gebrauchten photoelektrischen Spektrophotometer wird leider nicht eingegangen.

Der dritte Teil führt den Leser langsam, aber sicher auf Grund ausgewählter Beispiele in die Praxis der Absorptionsanalyse ein. Die Darstellung ist klar und treffend.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Die Verfasser haben auf Grund jahrelanger persönlicher Erfahrung eine vorzügliche Einführung in ihr Arbeitsgebiet geboten. Schade, daß sie nicht auf die objektiven Arbeitsmethoden der modernen, direkt anzeigenden Instrumente eingehen. Der Mangel ist wohl darauf zurückzuführen, daß den Verfassern zur Zeit der Abfassung des Manuskriptes die ausländische Literatur nicht zur Verfügung stand. Dieser Mangel des Buches, der bei einer folgenden Auflage leicht zu beheben ist, ist aber bei weitem nicht so wesentlich, als es auf den ersten Blick scheinen mag. Er wird zudem fast völlig aufgewogen durch die hervorragend klare und vorbildliche Weise, mit der die Grundlagen des Analysenverfahrens behandelt werden. Diese Grundlagen sind wesentlich und sie bleiben die gleichen, ob nun das Anzeigeinstrument visuell oder photographisch oder photoelektrisch arbeitet. Die gediegene Einführung in die Absorptions-Spektralanalyse kann daher allen Spektrochemikern, die auf diesem Gebiete arbeiten, bestens empfohlen werden. *G. Milazzo*-Rom.

Paul Walden: **Chronologische Übersichtstabellen zur Geschichte der Chemie von den ältesten Zeiten bis zur Gegenwart.** XI, 118 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag. 1952. DM 12,60.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß für die lebendige Gestaltung des Chemieunterrichtes die Bedachtnahme auf die historische Entwicklung der Chemiewissenschaft von größter Bedeutung ist. Im Hinblick auf das enorme Tatsachenmaterial dieser Entwicklung und die ungeheure Zahl von Einzelleistungen, die dazu beigetragen haben, muß es als ein besonderes Verdienst des Verfassers angesehen werden, daß es ihm gelang, in relativ beschränktem Umfang eine so reichhaltige Sammlung von Einzeltatsachen zu bringen, die für den geistesgeschichtlichen Zusammenhang und für das Verständnis des allmählich Gewordenen auf diesem Gebiet von Belang sind. Dabei beschränkt sich der Verfasser durchaus nicht nur auf die knappe Anführung von Namen, Jahreszahlen und Leistungen, sondern er bringt in Form kurzer Zusammenfassungen am Schluß einzelner Abschnitte oder durch die Wiedergabe kurzer Zitate aus Briefen oder Publikationen von Zeitgenossen Klarheit und Licht in die genetischen Zusammenhänge des sich über viele Jahrhunderte erstreckenden Ringens um Erkenntnis. Dadurch erheben sich diese chronologischen Tabellen ganz bedeutend über das Niveau einer nur kompilatorischen Wiedergabe und werden zu einer höchst anregenden Geschichte des Wachstums der chemischen Wissenschaft, deren Ausbreitung und Verzweigung um so mächtiger in Erscheinung tritt, je mehr sie sich der Gegenwart nähert. Durch die Angabe der jeweils wichtigsten und entscheidenden Veröffentlichungen für einzelne Entdeckungen ist die Einsichtnahme in die Originalliteratur wesentlich erleichtert.

Zwar kann es nicht die Aufgabe einer Buchbesprechung sein, die Vollständigkeit des hier Gebotenen in allen Einzelheiten nachzuprüfen, aber es mag doch Erwähnung finden, daß mit Ausnahme der „Begründung der quantitativen organischen Mikroanalyse" durch *Pregl* (ohne Literaturangabe!) keinerlei sonstiger Hinweis auf Leistungen auf dem Gesamtgebiet der Mikrochemie zu finden ist. Eine moderne Geschichte der Chemie dürfte unseres Erachtens, auch wenn sie in knappster Form abgefaßt wird, zumindest die Arbeiten *Emichs* nicht mit Schweigen übergehen. *M. K. Zacherl*-Wien.

Abkürzungen	Abbreviations	Abréviations
Amer. J. Physiol.	American Journal of Physiology	
Analyst	The Analyst	
Analyt. Chemistry	Analytical Chemistry	
Analyt. Chim. Acta	Analytica Chimica Acta	
Ann. Chem.	Liebig's Annalen der Chemie	
Ann. chim.	Annales de chimie	
Ann. Physik	Annalen der Physik	
Ann. physique	Annales de physique	
Arch. Pharmaz.	Archiv der Pharmazie	
Arch. Physiol.	Archiv für Physiologie	
Arch. sci. phys. nat.	Archives des sciences physiques et naturelles	
Ark. Kemi, Mineral. Geol.	Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi	
Atti r. accad. Lincei	Atti della Reale Accademia dei Lincei	
Ber. dtsch. chem. Ges.	Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft	
Biochemic. J.	Biochemical Journal	
Biochem. Z.	Biochemische Zeitschrift	
Bull. soc. chim. France	Bulletin de la société de chimie de France	
CaEN	Chemical and Engineering News	
Chem. Abstr.	Chemical Abstracts	
Chem. Ind.	Die Chemische Industrie	
Chem. Weekbl.	Chemisch Weekblad	
Chem. Zbl.	Chemisches Zentralblatt	
Chem.-Ztg.	Chemiker-Zeitung	
C. r. acad. sci., Paris	Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences	
Helv. Chim. Acta	Helvetica Chimica Acta	
Ind. Engng. Chem., Analyt. Ed.	Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition	
J. Amer. Chem. Soc.	Journal of the American Chemical Society	
J. Biol. Chem.	Journal of Biological Chemistry	
J. Chem. Education	Journal of Chemical Education	
J. Chem. Soc. London	Journal of the Chemical Society London	
J. Clin. Investigation	Journal of Clinical Investigation	
J. phys. chim.	Journal de physique et de chimie	
J. Physical Chem.	Journal of Physical Chemistry	
J. Physiol.	Journal of Physiology	
J. prakt. Chem.	Journal für praktische Chemie	
J. Soc. Chem. Ind.	Journal of the Society of Chemical Industry	
Kolloid-Beih.	Kolloid-Beihefte	
Kolloid-Z.	Kolloid-Zeitschrift	

Mikrochem.	Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta
Monatsh. Chem.	Monatshefte für Chemie
Nature	Nature (London)
Naturwiss.	Die Naturwissenschaften
Pharmaz. Zentralhalle	Pharmazeutische Zentralhalle
Physikal Z.	Physikalische Zeitschrift
Proceed. Royal Soc. London	Proceedings of the Royal Society of London
Rec. trav. chim. Pays-Bas	Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas
Science	Science
Trans. Royal Soc. London	Transactions of the Royal Society of London
Z. analyt. Chem.	Zeitschrift für analytische Chemie
Z. angew. Chem.	Zeitschrift für angewandte Chemie (Die Chemie)
Z. anorg. Chem.	Zeitschrift für anorganische Chemie
Z. Kristallogr.	Zeitschrift für Kristallographie
Z. Physik	Zeitschrift für Physik
Z. physik. Chem.	Zeitschrift für physikalische Chemie
Z. physiol. Chem.	Zeitschrift für physiologische Chemie

Die Autoren werden dringend gebeten, bei allen Literaturzitaten anzugeben:

1. Titel der Zeitschrift in obenstehender Abkürzung,
2. Eventuelle Serienzahl in eckiger Klammer,
3. Bandzahl unterstrichen,
4. Seitenzahl,
5. Jahreszahl in runder Klammer.

The authors are urged to cite all the references as follows:

1. Abbreviated title of the periodical according to the above list,
2. eventual number of series, enclosed in crotchets (square brackets),
3. number of volume, underlined,
4. page-number,
5. year, enclosed in parentheses (round brackets).

Les auteurs sont instamment priés d'indiquer leurs sources comme suit:

1. titre abrégé du périodique selon liste ci-dessus,
2. numéro éventuel de la série entre crochets,
3. numéro du volume, souligné,
4. page,
5. année, entre parenthèses ordinaires.

Herausgeber und Eigentümer: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21.
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52.